



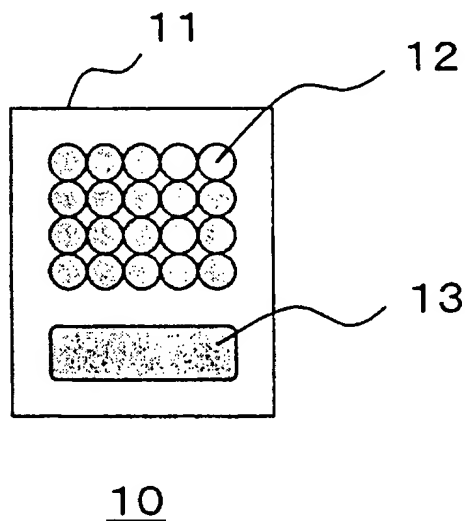
(51) 国際特許分類 C12M 1/00, C12Q 1/68, G01N 35/00 // C12N 15/09	A1	(11) 国際公開番号 WO00/14197 (43) 国際公開日 2000年3月16日(16.03.00)
(21) 国際出願番号 PCT/JP99/04459 (22) 国際出願日 1999年8月19日(19.08.99) (30) 優先権データ 特願平10/255288 1998年9月9日(09.09.98) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 日立ソフトウェアエンジニアリング株式会社 (HITACHI SOFTWARE ENGINEERING CO., LTD.)[JP/JP] 〒231-8475 神奈川県横浜市中区尾上町6丁目81番地 Kanagawa, (JP) (72) 発明者; および (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ) 吉井淳治(YOSHII, Junji)[JP/JP] 下田正文(SHIMODA, Masafumi)[JP/JP] 山本顕次(YAMAMOTO, Kenji)[JP/JP] 渡辺敏正(WATANABE, Toshimasa)[JP/JP] 〒231-8475 神奈川県横浜市中区尾上町6丁目81番地 日立ソフトウェアエンジニアリング株式会社内 Kanagawa, (JP)		(74) 代理人 平木祐輔, 外(HIRAKI, Yusuke et al.) 〒105-0001 東京都港区虎ノ門1丁目17番1号 虎ノ門5森ビル3階 Tokyo, (JP) (81) 指定国 JP, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE) 添付公開書類 国際調査報告書

(54)Title: BIOCHIP AND METHOD OF USING BIOCHIP

(54)発明の名称 バイオチップ及びバイオチップの使用方法

(57) Abstract

A biochip capable of a centralized control of information and a method of using the biochip, wherein a storage medium (13) is added to a fixed substrate (11) such as glass on which biopolymer (12) such as DNA and protein is spotted and information on spotted positions on the biochip (10) and information on biopolymer spotted on each position are stored on the storage medium (13) in association with each other.



情報を一元的に管理できるバイオチップ及びそのバイオチップの使用方法を提供する。DNAやタンパク質等の生体高分子(12)をスポットしたガラスなどの固定化基板(11)に記憶媒体(13)を付加し、記憶媒体(13)にバイオチップ(10)上のスポット位置に関する情報と各位置にスポットされた生体高分子に関する情報を関連づけて記憶する。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE アラブ首長国連邦	DM ドミニカ	KZ カザフスタン	RU ロシア
AL アルバニア	EE エストニア	LC セントルシア	SD スーダン
AM アルメニア	ES スペイン	LI リヒテンシュタイン	SE スウェーデン
AT オーストリア	FI フィンランド	LK スリ・ランカ	SG シンガポール
AU オーストラリア	FR フランス	LR リベリア	SI スロヴェニア
AZ アゼルバイジャン	GA ガボン	LS レソト	SK スロヴァキア
BA ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB 英国	LT リトアニア	SL シェラ・レオネ
BB バルバドス	GD グレナダ	LV ラトヴィア	SN セネガル
BE ベルギー	GE ギルジア	MA モロッコ	SZ スワジランド
BF ブルキナ・ファソ	GH ガーナ	MC モナコ	TD チャード
BG ブルガリア	GM ガンビア	MD モルドヴァ	TG トーゴ
BJ ベナン	GN ギニア	MG マダガスカル	TJ タジキスタン
BR ブラジル	GW ギニア・ビサウ	MK マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TZ タンザニア
BY ベラルーシ	GR ギリシャ	共和国	TM トルクメニスタン
CA カナダ	HR クロアチア	ML マリ	TR トルコ
CF 中央アフリカ	HU ハンガリー	MN モンゴル	TT トリニダード・トバゴ
CG コンゴ	ID インドネシア	MR モーリタニア	UA ウクライナ
CH スイス	IE アイルランド	MW マラウイ	UG ウガンダ
CJ コートジボアール	IL イスラエル	MX メキシコ	US 米国
CM カメルーン	IN インド	NE ニジェール	UZ ウズベキスタン
CN 中国	IS アイスランド	NL オランダ	VN ヴェトナム
CR コスタ・リカ	IT イタリア	NO ノールウエー	YU ユーゴスラビア
CU キューバ	JP 日本	NZ ニュー・ジールランド	ZA 南アフリカ共和国
CY キプロス	KE ケニア	PL ポーランド	ZW ジンバブエ
CZ チェコ	KG キルギスタン	PT ポルトガル	
DE ドイツ	KP 北朝鮮	RO ルーマニア	
DK デンマーク	KR 韓国		

明 細 書

バイオチップ及びバイオチップの使用方法

技術分野

この発明は、特定のDNAやタンパク質と特異的にハイブリダイズするプローブDNAなどの生体高分子を多数スポット配列したバイオチップに関する。

背景技術

従来から生化学における遺伝子などの研究では、ガラスやナイロン又はニトロセルロースメンブレンなどの固定化材料にDNAやタンパク質などの生体高分子を高密度にスポットしたバイオチップを用いて、ハイブリダイズなどの実験を行ってきた。第2図は、従来のバイオチップの模式図である。このバイオチップ20は、固定化基板21の表面に多数種類のDNA22が予め決められた配列に従ってスポットされている。このようなバイオチップ20の場合、バイオチップ自体の形状はどれも同じであるため、外観から個々のバイオチップを識別することはできず、スポットしてあるDNAの種類も判別できない。そのため、バイオチップ20の片隅に識別番号23を書き込んだりバーコードを付与し、どの識別番号あるいはバーコードのバイオチップにはどのDNAをどの場所にスポットしたという情報を別途メモして保管しておくことでバイオチップの管理を行っていた。

しかし、このように別々の部材に書き込まれた2種類の情報を併用して管理する方法では、バイオチップの識別はできるが、どの様な核酸配列をしているDNAがチップ上にスポットされているかなどの学術的な情報は別のもので管理されているため、実験時に誤って使用されるケースがあった。

本発明は、このような従来技術の問題点に鑑みてなされたもので、情報を一元的に管理することのできるバイオチップ及びそのバイオチップの使用方法を提供することを目的とする。

発明の開示

本発明においては、バイオチップにメモリを組み込み、スポットしたDNAの種類、量、スポット位置などの情報をバイオチップと一体化したメモリに記憶させることで前記目的を達成する。このバイオチップを用いると、バイオチップ上のどの位置にどのようなDNAがスポットされているか、いつどのような実験で誰が使用したかなど、バイオチップに関する全ての情報を一元化して管理することができる。

すなわち、本発明によるバイオチップは、複数の生体高分子が所定の配列でスポットされる表面と、スポットされる生体高分子に関する情報を記憶する記憶媒体とを備えることを特徴とする。

本発明によるバイオチップは、また、複数の生体高分子、例えばDNA、タンパク質などが所定の配列でスポットされた表面と、生体高分子に関する情報を記憶する記憶媒体とを備えることを特徴とする。バイオチップ上にスポットされるDNAは、遺伝子診断や遺伝子発現解析に利用される多数のプローブDNAであってもよいし、個人のDNAであってもよい。

生体高分子がスポットされる表面を備える部材と記憶媒体とは着脱自在とすることもできるし、一体に構成することもできる。記憶媒体には非接触状態で情報をリード／ライトすることのできる半導体メモリを用いるのが好ましい。

記憶媒体には、バイオチップの表面上のスポット位置に関する情報と各スポット位置にスポットされた生体高分子に関する情報を関連づけて記憶することができる。スポット位置に関する情報としては、例えば、スポット配列中の順番を表す番号、あるいはスポット位置の座標を使用することができる。生体高分子に関する情報としては、例えばDNAの塩基配列情報、そのDNAに係する遺伝病の情報、そのDNAに関する遺伝子、スポット量などを記憶しておくことができる。

本発明の記憶媒体を備えるバイオチップの使用に当たっては、バイオチップの表面に所定の配列で複数の生体高分子をスポットするとともに、記憶媒体にスポット位置に関する情報と各スポット位置にスポットされた生体高分子に関する情報、例えばDNA塩基配列を関連付けて書き込む。記憶媒体への書き込みは1個スポットする毎に情報書き込みしてもよいし、あるいは後でまとめて書き込みし

てもよい。

また、表面に複数の生体高分子が所定の配列でスポットされ、スポット位置に関する情報と各スポット位置にスポットされた生体高分子に関する情報を関連付けて記憶した記憶媒体を備える本発明のバイオチップの使用に当たっては、バイオチップにサンプルを接触させ、サンプルがハイブリダイズしたスポット位置を蛍光標識から発せられる蛍光等を用いて検出し、ハイブリダイゼーションが検出されたスポット位置をキーに記憶媒体の記憶内容からサンプルがハイブリダイズした生体高分子の情報を検索して表示することができる。

図面の簡単な説明

第1図は、本発明によるバイオチップの一例の模式図である。

第2図は、従来のバイオチップの模式図である。

第3図は、本発明によるバイオチップの他の例を示す模式図である。

第4図は、本発明によるバイオチップの更に他の例を示す模式図である。

第5図は、バイオチップに付属する記憶媒体に記憶させる情報の一例を示す図である。

第6図は、バイオチップ作製時の処理を説明する図である。

第7図は、バイオチップの検査工程を説明する図である。

第8図は、本発明によるバイオチップを用いたハイブリダイゼーション処理の説明図である。

第9図は、本発明によるバイオチップの読み取り処理の説明図である。

第10図は、バイオチップの解析結果の表示例を示す図である。

第11図は、バイオチップの解析結果の表示例を示す図である。

第12図は、バイオチップイメージ及びメモリ情報読み取り解析処理の実行プロセス説明図である。

第13図は、バイオチップイメージ及びメモリ情報読み取り解析処理のフローの説明図である。

発明を実施するための最良の形態

以下、図面を参照して本発明を詳細に説明する。

第1図は、本発明によるバイオチップの一例の模式図である。この例のバイオチップ10は、DNAやタンパク質等の生体高分子12を1cm²当たり約1万个スポットしたガラスやナイロン又はニトロセルロースメンブレンなどの固定化基板11に記憶媒体13を付加したものである。記憶媒体13は、ハイブリダイゼーションの際に生体高分子12と共にサンプル溶液などに曝されるため、その表面領域をプラスチック、ガラス等で被覆しておく必要がある。このバイオチップ10は、例えば固定化基板11としてシリコンウェハー等の半導体メモリ用基材を用い、その一部に記憶媒体13としての半導体メモリを形成してメモリ上部を樹脂等で被覆し、残ったシリコン基材の表面にDNAなどの生体高分子12を直接スポットすることで作製することができる。この方式によると、バイオチップを小型化することが可能である。

第3図は、本発明によるバイオチップの他の例を示す模式図である。この例のバイオチップ30は、ケース34とDNA等の生体高分子32を表面にスポットしたチップ31からなる。ケース34には記憶媒体33aが埋設され、またチップ31を収容する凹部35を有する。記憶媒体33aはICメモリであり、同じくケース34に埋設されているループ状アンテナ33bと接続されて非接触記憶手段33を構成する。

この非接触記憶手段33は、バイオチップ30の近くに配置されたリーダー／ライターが発する電磁波をアンテナ33bで受け、電磁誘導によって発生する起電力を電源としてデータ通信を行い、記憶媒体33aへの情報の書き込み、あるいは記憶媒体33bからの情報の読み出しを行う。非接触記憶手段30は外部に露出した端子を要することなく非接触で情報をリード／ライトすることができ、完全に密封して外部環境と遮断した状態におくことができるため、試薬やサンプル溶液に曝されるバイオチップに付属するメモリとして好適である。

第3図に示したバイオチップ30の使用法は概略以下の通りである。バイオチップ30への生体高分子スポット操作は、ケース34から分離したチップ31のみを用いて行う。その後、チップ31をケース34の凹部35にはめ込んで一体化し、一体化したバイオチップ30に対して後述する第7図の検査工程を行い、

検査情報を非接触記憶手段 33 の記憶媒体 33a に書き込む。その後、チップ 31 をケース 33 から外し、チップ 31 のみをハイブリダイゼーション溶液に浸漬して後述する第 8 図のハイブリダイゼーション反応工程を行う。ハイブリダイゼーション反応の後、再度チップ 31 をケース 34 に組み込み、後述する第 9 図の読み取り処理を行う。読み取り処理で得られたデータは非接触記憶手段 33 の記憶媒体 33a に記憶される。

第 3 図に示した方式のバイオチップ 30 では、ハイブリダイゼーション反応の時、非接触記憶手段 33 が設けられたケース 34 が溶液に曝されることがない。従って、ケース 34 の材質等に対する制限が緩い。また、ケース 34 が溶液に曝されないため、記憶手段として非接触記憶手段 33 に代えて、端子等がケース表面に露出した接触型の記憶手段を用いることが可能である。また、ケース 34 は、記憶媒体 33a の記憶内容を消去して再利用することが可能である。

第 4 図は、本発明によるバイオチップの更に他の例を示す模式図である。この例のバイオチップ 40 は、ガラスやプラスチック等の固定化基板 41 の一部にエッチング処理等で凹部を形成し、そこにループ状アンテナ 43b とそれに接続された記憶媒体 43a とからなる非接触記憶手段 43 を収容した後、樹脂等によって記憶媒体 43a を埋め込んだものである。固定化基板 41 の表面には、DNA 等の生体高分子 42 が所定の配列にスポットされている。この方式のバイオチップは、第 3 図に示したバイオチップと比較して機構が単純である。また、生体高分子をスポットする部材中に記憶媒体を埋め込んで一体化しているため、バイオチップ全体を小型化することができる。

第 5 図は、個々のバイオチップに付属する記憶媒体に記憶させる情報の一例を示す図である。記憶する情報としては、バイオチップのシリアル番号、製造ロット番号、作製日時、スポット数、その他チップに関する付加情報などバイオチップ全体についての情報と、バイオチップ上の各スポットに関する情報とがある。各スポットに関する情報としては、例えばスポット番号、バイオチップ上の XY 座標、スポット量やスポットした時間などのスポット条件情報、スポットした DNA やタンパク質に関する名称、機能などの付加情報などが記憶される。スポット番号は、バイオチップ上にスポットされた順番に従って付される連続番号であ

る。スポットのXY座標は、例えばバイオチップの左上角位置を原点とする座標で表される。また、バイオチップをDNA診断に利用する場合には、個人情報や通常カルテに記載される情報も記憶する。

次に、第6図から第9図を用いて、チップ情報の管理方法について説明する。第6図は、バイオチップ作製時の処理を説明する図である。マイクロプレート61には、多数種類の生体高分子、例えば既知の塩基配列を有するサンプルDNA62が各々既知の位置に載置されている。コンピュータ66によって制御される駆動コントローラ65の制御下に、XY駆動装置63によってピン64をマイクロプレート61上の所定の位置に移動し、その位置のDNAをピン64の先端に付着させたのち、再びXY駆動装置63によってピン64をバイオチップ1上の所定の位置に移動し、表面に接触させてスポットする。こうして、バイオチップ1上にDNAスポット2が形成される。この動作を反復することにより、マイクロプレート61上の各サンプルDNA62は、バイオチップ1上に予め定められた配列に従ってスポット配置される。バイオチップ1は、メモリ3を備えている。

コンピュータ66は、リーダー/ライター67に指令し、バイオチップ1のスポット番号、スポット位置、そのスポット位置にスポットしたサンプルDNA62の核酸配列、遺伝子名、マイクロプレート61の番号や位置およびバイオチップ1の作製日など、バイオチップ作製情報を、例えば第5図に示した形式に従ってメモリ3に書き込み記憶させる。このとき、リーダー/ライター67は非接触型とするのが望ましいが、第3図に示したタイプのバイオチップの場合には接触型であってもよい。リーダー/ライター67による情報書き込みはスポットティング動作に同期して一つずつ行ってもよいし、全てのスポット操作が終了した後で一度に行ってもよい。

第7図は、バイオチップの検査工程を説明する図である。この工程では、第6図に示す処理を経て作製されたバイオチップ1に対して、全てのスポット位置2にDNAが正常にスポットされているか否かなどの検査を行い、その検査情報をバイオチップのメモリ3に書き込む処理を行う。

バイオチップ1上のスポット配列は、CCDカメラ等の撮像装置71で撮像され、撮像データは読み取りコントローラ72からコンピュータ66へ転送される。

コンピュータ 66 では、スポット配列の撮像データを解析し、適量の DNA がスポットされていない不良スポットを検出する。マイクロプレート 61 上の全てのサンプル DNA 62 に予め FITC (イソチオシアン酸フルオレセイン) などの蛍光物質が付与されている場合には、スポット位置 2 にアルゴンイオンレーザ等の励起光を照射することによって、各スポット位置の蛍光物質から発せられる蛍光の有無によって不良スポットを知ることができる。さらに、各スポットから発せられる蛍光強度を測定することにより、各スポットにスポットされている DNA の量を検出することができる。こうして検出された不良スポットのスポット番号、各スポットにスポットされている DNA の量などの情報は、コンピュータ 66 の制御の下にリーダー/ライター 67 によってメモリ 3 に書き込まれる。

第 7 図の検査工程の後、不良スポットとなった DNA を第 6 図のスポットティング工程によって再度スポットしてもよい。この場合、再スポットする場所は、不良スポットとなった位置と重なる位置であってもよいし、通常のスポット位置とは異なる予備のスポット位置であってもよい。また、バイオチップ上のスポット配列の撮像は、スポット配列を直接撮像する代わりに、位相差顕微鏡等を介して撮像するようにしてもよい。

第 8 図は、本発明によるバイオチップを用いたハイブリダイゼーション処理の説明図である。図示するように、DNA 等の生体高分子 2 がスポットされた記憶媒体 3 付きのバイオチップ 1 と、蛍光標識を付けたサンプル DNA 82 をハイブリダイゼーション溶液 81 に入れて、ハイブリダイズさせる。バイオチップ 1 にスポットされた DNA 2 とサンプル DNA 82 の間に相補的な DNA 配列があるときは、2 重らせん構造を形成してスポット上で DNA が結合する。

第 9 図は、本発明によるバイオチップの読み取り及び解析処理の説明図である。バイオチップ 1 上のどのスポット 2 の DNA がサンプル DNA と結合したかを、バイオチップ 1 のスポット 2 に励起光を照射することによってスポットから発せられる蛍光をもとに CCD 71 などの光センサーで読み取る。光センサーで読み取られたデータは、読取りコントローラ 72 からコンピュータ 66 に転送される。コンピュータ 66 では、光センサーで読み取られたバイオチップ 1 上の蛍光位置情報と、リーダー/ライター 67 を用いてバイオチップ 1 のメモリ 3 から読み出

したスポットに関する情報を用いて、バイオチップ上のDNAとハイブリダイズしたサンプルDNAの情報を導出する。すなわち、光センサーで読み取られた結果から、バイオチップ1上のDNAとハイブリダイズしたと考えられるスポットに関し、メモリ3内の情報を対応付けてコンピュータ66の表示部に出力する。

また、メモリ3に記憶されている各スポットのDNA量のデータと、光センサーから得られたハイブリダイゼーション反応を生じたDNA量との差分からデータの正規化を行い、結果をリーダー／ライター67でメモリ3に書き込む。こうして情報の一元管理を可能とする。また、定量的解析や発現量解析も可能となる。

第10図及び第11図は、第9図で説明したバイオチップの解析結果の表示例を示している。第10図に示した表示例では、光センサーで読み取られたバイオチップの蛍光強度像が表示画面に表示される。操作者が、詳細な情報を知りたいスポットのイメージをマウスカーソル等のポインタで指定すると、そのスポットに関してメモリに記憶されている付加情報がリーダー／ライター67によって取り出され、表示画面に表示される。

第11図に示した表示例は、解析結果を表形式で一覧表示する例である。第11図の例では、バイオチップの識別情報と付加情報、及び各スポットに関する情報とハイブリダイゼーション反応の結果を表示している。ハイブリダイゼーション反応結果は、ハイブリダイゼーションが生じたスポットを○、生じていないスポットを×で表示してある。この例では、全てのスポットの情報を表示しているが、例えばハイブリダイゼーションが生じたスポットのみを一覧表示するなど、所望のフィルター処理を施した結果を表示するようにしてもよい。また、第10図の画面と第11図の画面を切り替え表示できるようにしてもよい。

第12図は、バイオチップ使用時における一連の処理の実行プロセスを説明したものである。コンピュータ66にロードされているバイオチップイメージ及びメモリ情報読取り実行処理プログラム90は、キーボード101などの入力装置からの指示により動作開始する。バイオチップイメージ及びメモリ情報読取り実行処理プログラム90のイメージ読取りモジュール91はバイオチップ読み取り装置70の読取りコントローラ72を制御し、バイオチップ1上のスポット2の蛍光強度をCCD71などの光センサーで読取る。読み取られたイメージデータ

は、読取りコントローラ 7 2 からコンピュータ 6 6 へ転送される。転送されてきたイメージデータに対して、ノイズフィルタリング処理モジュール 9 2 及びイメージピーク認識処理モジュール 9 3 において、ノイズ除去処理とピーク認識処理を行い、各スポットの蛍光のピーク座標及び強度を決定する。

次に、メモリ情報読取り処理モジュール 9 4 は、バイオチップ読み取り装置 7 0 にバイオチップ 1 上のメモリ 3 に保存されているスポット情報の読み取りを指示する。読み取られたスポット情報はコンピュータ 6 6 へ転送され、イメージ・メモリ情報連結処理モジュール 9 5 は、このスポット情報とイメージデータ及びピーク座標、蛍光強度の情報を連結させる。イメージ・メモリ情報画面表示処理モジュール 9 6 は、連結されたイメージ・メモリ情報を RGB ディスプレイ 1 0 2 に表示させる。イメージ・メモリ情報は、イメージ・メモリ情報保存処理モジュール 9 7 により、記憶媒体 1 1 0 であるハードディスク装置 1 1 1 やフロッピーディスク装置 1 1 2 やバイオチップ 1 に保存される。第 1 2 図に示した各モジュールはプログラムによってソフト的に実現することができる。

第 1 3 図は、バイオチップイメージ及びメモリ情報読み取り解析処理のフローを説明したものである。読取り装置等の初期処理を行った後、バイオチップ 1 上のスポット 2 の蛍光強度を CCD 7 1 などの光センサーで読取るチップ画像読取り処理 (S 1 1)、バイオチップ 1 上のメモリ 3 に保存されているスポット情報を読取る処理 (S 1 2)、チップ画像のスポットの蛍光のピーク座標及びピーク強度の認識処理 (S 1 3)、チップ画像から得られたスポットピーク情報及びメモリに格納されているスポット情報を連結処理 (S 1 4) を行う。一連の処理により得られた情報は、表示形式の選択 (S 1 5) に応じて、チップ画像及びカーソル位置のスポット情報の表示処理 (S 1 6) あるいは各スポット強度やスポット情報のリスト表示処理 (S 1 7) を行う。さらに、チップ画像、スポット強度、スポット情報は、ハードディスク装置 1 1 1 やフロッピーディスク装置 1 1 2 やバイオチップ 1 などの記憶媒体に格納される。そして、終了処理を実行し、バイオチップイメージ及びメモリ情報読み取り解析処理のフローは終了する。

このように、メモリを付属させた本発明のバイオチップを用いると、バイオチップ使用時には使用したサンプル DNA や実験環境などのデータを付属メモリに

記憶させ、分析や解析時にはその結果を付属メモリに記憶させることで情報を一元的に管理することができ、実験のミスを防止することができる。また、バイオチップの読取り時、予め情報としてチップ上の各DNAの量を付属メモリに記憶させておき、ハイブリダイゼーションなどの実験後のチップ読取り時にDNA量の差分で結果を求めるようにすれば、正確な実験結果を得ることができる。分析や解析結果をコンピュータでデータベース管理するときは、直接バイオチップの付属メモリから情報を読み込みデータベース化することで容易に情報管理を行うことができる。

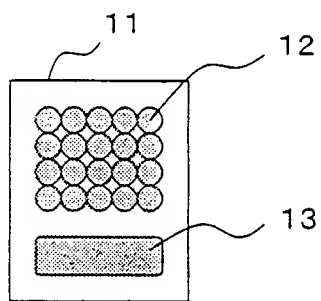
産業上の利用可能性

以上説明したように、本発明によると、バイオチップに関する情報をそのバイオチップ自身に付属するメモリに記憶させることで、情報の一元的管理が可能になり、ミスの発生を防止して迅速かつ正確な処理を行うことができる。

請 求 の 範 囲

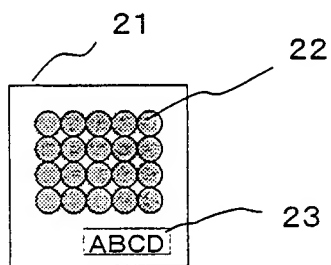
1. 複数の生体高分子が所定の配列でスポットされる表面と、スポットされる生体高分子に関する情報を記憶する記憶媒体とを備えることを特徴とするバイオチップ。
2. 複数の生体高分子が所定の配列でスポットされた表面と、前記生体高分子に関する情報を記憶する記憶媒体とを備えることを特徴とするバイオチップ。
3. 前記表面を備える部材と前記記憶媒体とが着脱自在であることを特徴とする請求項1又は2記載のバイオチップ。
4. 前記表面を備える部材と前記記憶媒体とが一体に構成されていることを特徴とする請求項1又は2記載のバイオチップ。
5. 前記記憶媒体は非接触状態で情報をリード／ライトすることのできる半導体メモリであることを特徴とする請求項1～4のいずれか1項記載のバイオチップ。
6. 前記記憶媒体は、前記表面上のスポット位置に関する情報と各スポット位置にスポットされた生体高分子に関する情報を関連づけて記憶することを特徴とする請求項1～5のいずれか1項記載のバイオチップ。
7. 記憶媒体を備えるバイオチップを用い、前記バイオチップの表面に所定の配列で複数の生体高分子をスポットするとともに、前記記憶媒体にスポット位置に関する情報と各スポット位置にスポットされた生体高分子に関する情報を関連付けて書き込むことを特徴とするバイオチップの使用方法。
8. 表面に複数の生体高分子が所定の配列でスポットされたバイオチップにサンプルを塗布し、サンプルがハイブリダイズしたスポット位置を検出する工程を含むバイオチップの使用方法において、
前記バイオチップとしてスポット位置に関する情報と各スポット位置にスポットされた生体高分子に関する情報を関連付けて記憶した記憶媒体を備えるバイオチップを用い、
ハイブリダイゼーションが検出されたスポット位置をキーに前記記憶媒体の記憶内容からサンプルがハイブリダイズした生体高分子の情報を検索して表示することを特徴とするバイオチップの使用方法。

図 1



10

図 2



20

図 3

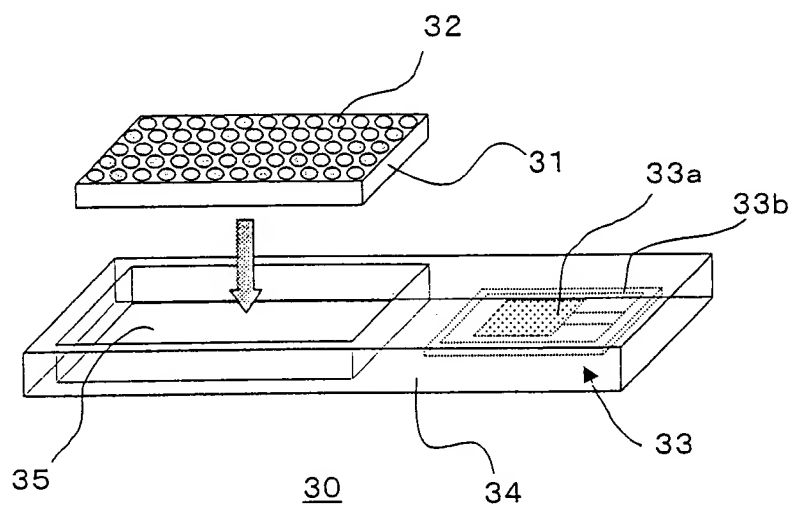


図 4

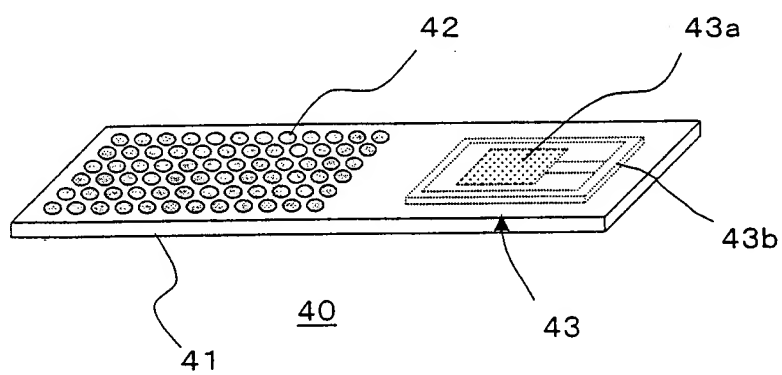


図 5

チップ番号			
製造ロット番号			
作成日時			
スポット数(n)			
チップ付加情報			
スポット番号(1)	スポット位置情報(座標(x1,y1))	スポット条件情報(1)	スポット付加情報(1)
(2)	[座標(x2,y2)]	(2)	(2)
⋮	⋮	⋮	⋮
(n)	[座標(xn,yn)]	(n)	(n)

図 6

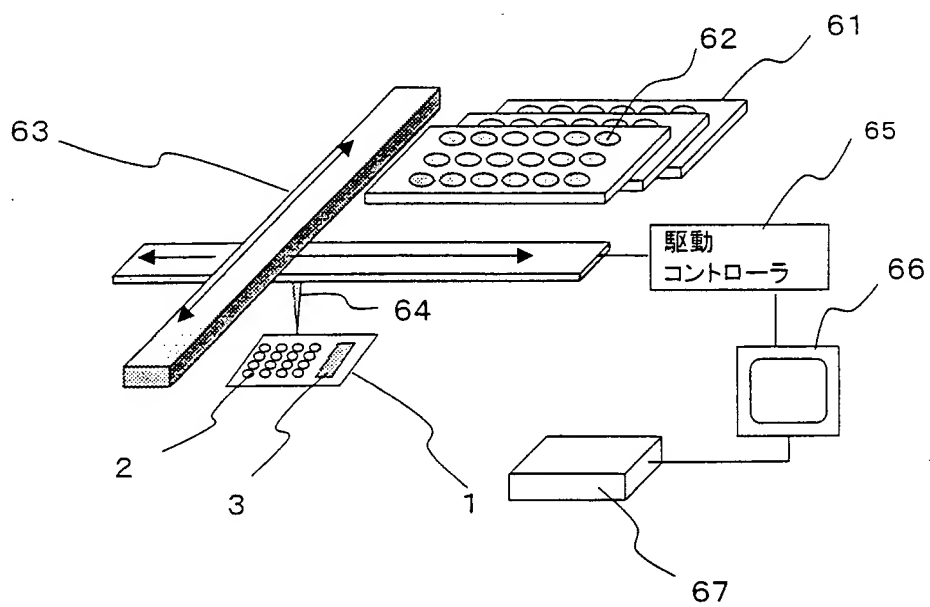


図 7

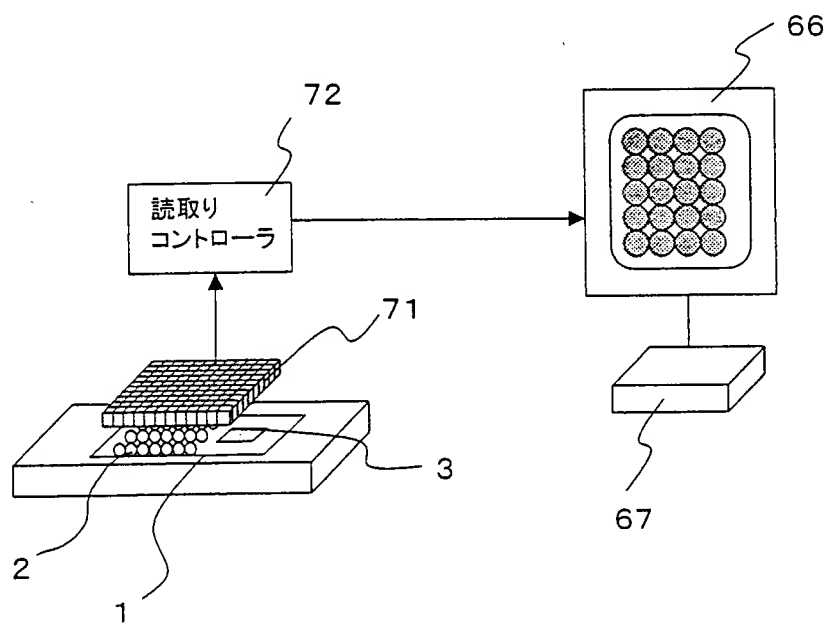


図 8

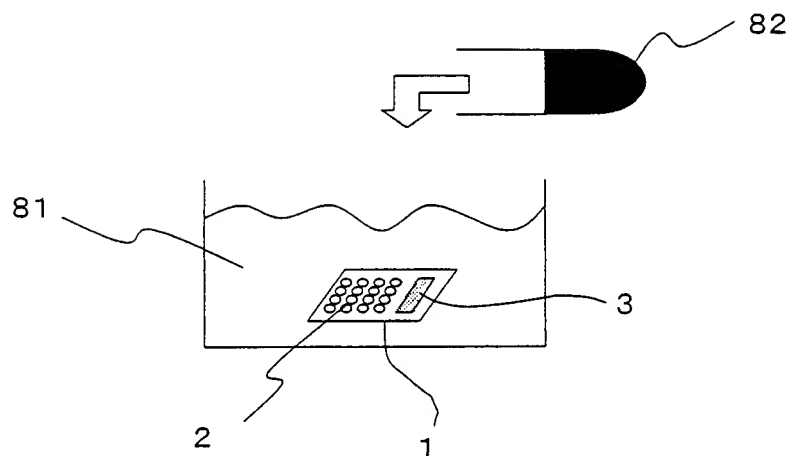


図 9

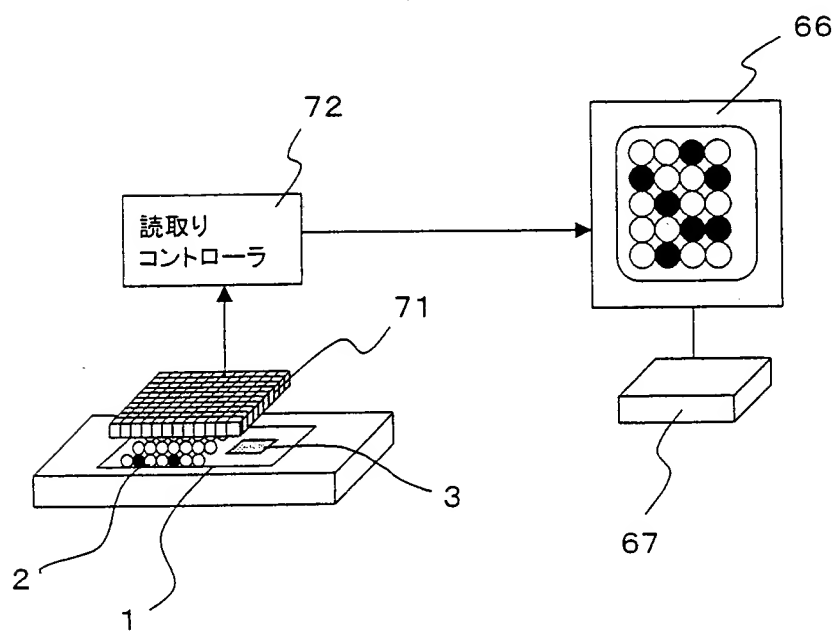


図 10

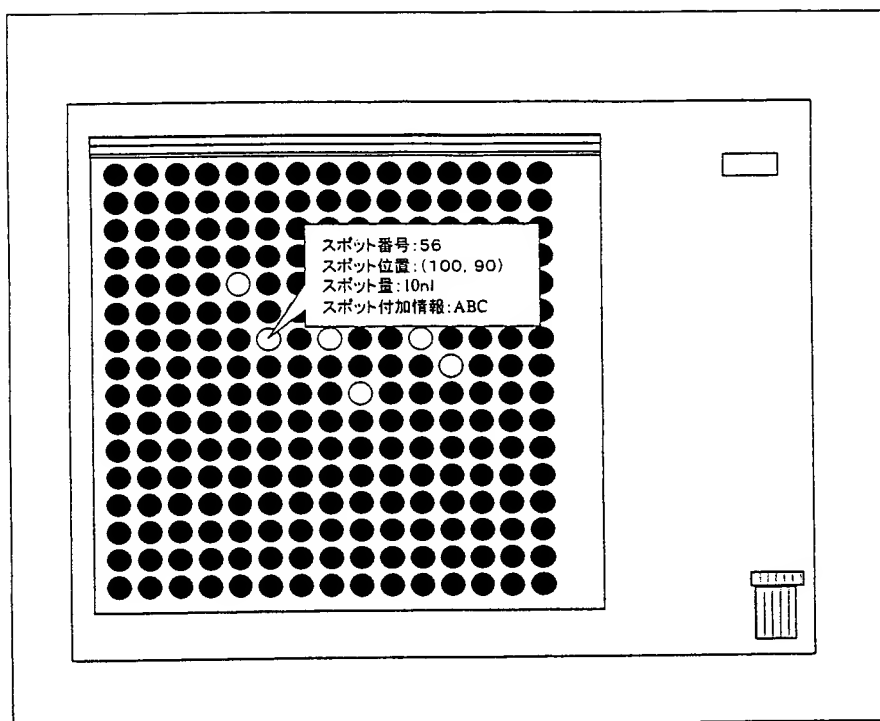


図 11

The screenshot shows a software window with a title bar. Inside, there is a text area with the following information:

チップ番号: 100
製造ロット番号: 11111
作成日: 1998/1/1
スポット数: 10000
コメント: ABCDEF

Below the text area is a table with 4 columns: No., Name, スポット量 [n l], and ハイブリッド結果. The table contains 10 rows of data. To the right of the table is a vertical scrollbar. In the bottom right corner of the window, there is a small icon of a trash can.

No.	Name	スポット量 [n l]	ハイブリッド結果
000001	AAAA	10	○
000002	ASASAS	10	○
000003	ASAS	8	×
000004	DDDD	7	×
000005	DFG	10	×
000006	DF	11	×
000007	FF	10	×
000008	FG	4	○
000009	DE	10	×
000010	QQQ	11	○

図 12

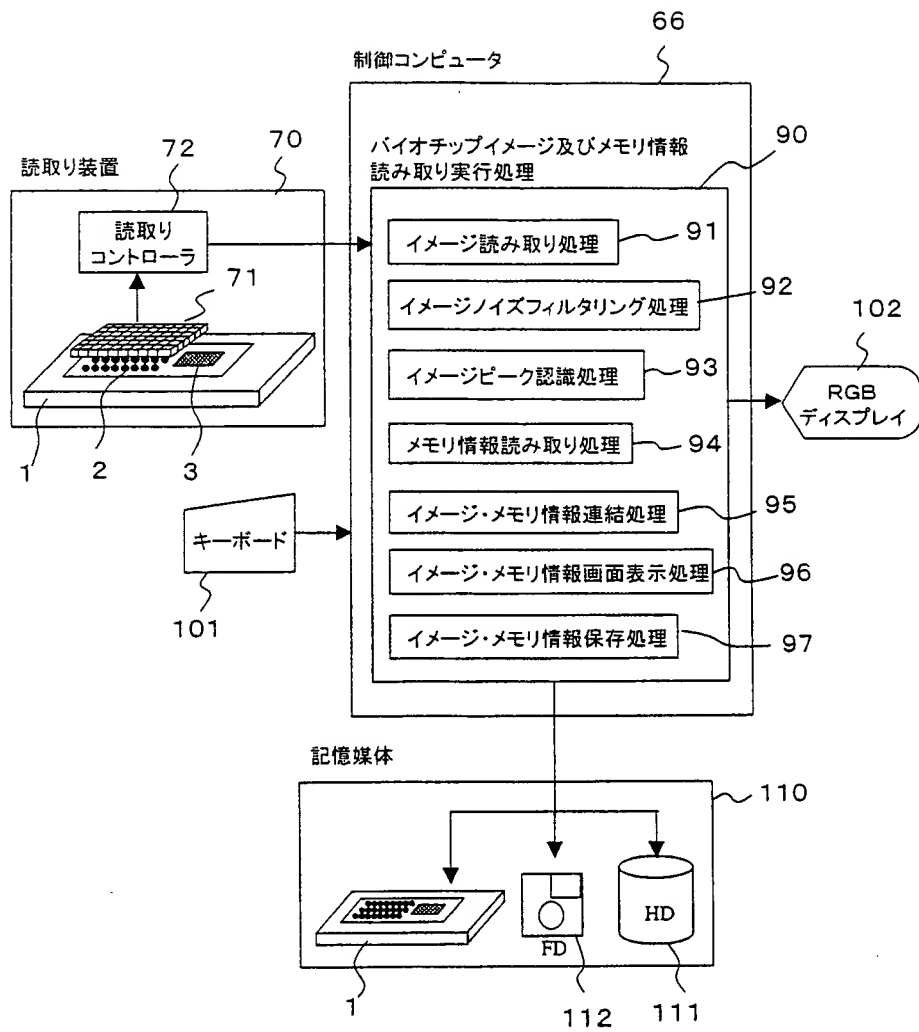
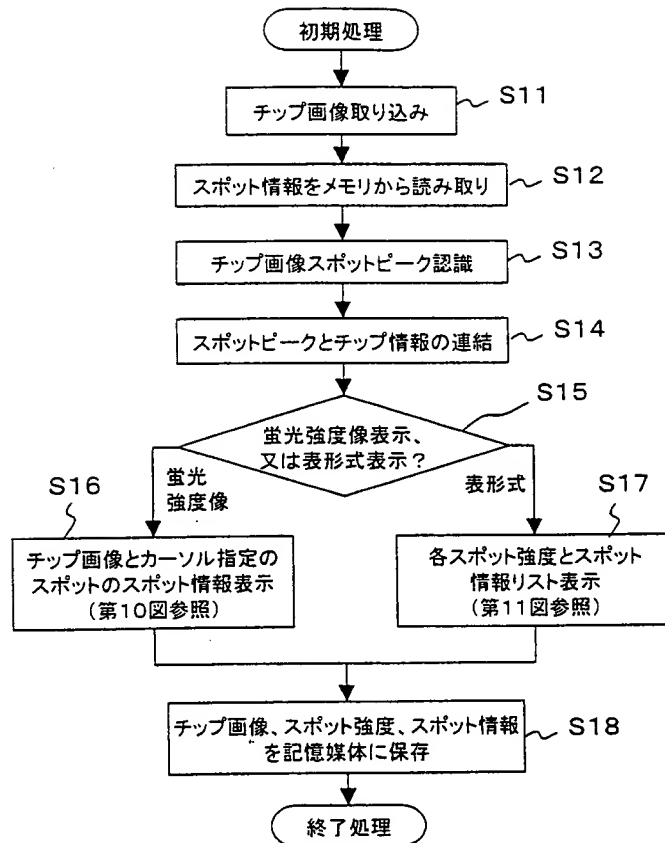


図 13



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/04459

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
Int. Cl ⁶ C12M1/00, C12Q1/68, G01N35/00 // C12N15/09		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
Int. Cl ⁶ C12M1/00, C12Q1/68, G01N35/00		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
WPI (DIALOG) BIOSIS (DIALOG) JOIS (JICST)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP, 5-26881, A (Hitachi, Ltd.), 02 February, 1993 (02.02.93) (Family: none)	1-8
Y	JP, 6-507498, A (Abotto Laboratories), 25 August, 1994 (25.08.94) & WO, 92/22802, A1 page 6, upper right column, lines 16-18	1-8
P, Y	Vivian G. Cheung et al. "Making and reading microarrays" Nature genetics supplement (January, 1999), Vol. 21, Pages 15-19	1-8
A	JP, -505763, A (Affymax Technologies N.V.), 08 October, 1992 (08.10.92) & WO, 90/15070, A1 & EP, 476014, A & EP, 619321, A1 & US, 5143854, A & US, 5405783, A & US, 5445934, A & US, 5510270, A	1-8
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family	
Date of the actual completion of the international search 26 November, 1999 (26.11.99)		Date of mailing of the international search report 07 December, 1999 (07.12.99)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
		Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/04459

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Osamu Kobayashi "Combinatorial synthesis: new technology of synthesizing various chemical compounds by using combination", Modern Chemistry (July, 1996), Vol. 304, pages 26-33; page 31, right column, line 4 to page 33, left column, line 1	1-8

国際調査報告

国際出願番号 PCT/J P 99/04459

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁴ C12M1/00, C12Q1/68, G01N35/00 // C12N15/09

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁴ C12M1/00, C12Q1/68, G01N35/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で利用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

WPI (DIALOG)
、 BIOSIS (DIALOG)
JOIS (JICST)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP, 5-26881, A (株式会社日立製作所) 2. 2月. 1993 (02. 02. 93) (ファミリーなし)	1-8
Y	JP, 6-507498, A (アボット・ラボラトリーズ) 25. 8月. 1994 (25. 08. 94) 第6頁右上欄第16-18行 & WO, 92/22802, A1	1-8
P, Y	Vivian G. Cheung et al. "Making and reading microarrays" Nature genetics supplement (1999 Jan.) Vol. 21 p. 15-19	1-8
A	JP, -505763, A (アフィマックス テクノロジーズ) 8. 10月. 1992 (08. 10. 92) & WO, 90/15070, A1 & EP, 476014, A & EP, 619321, A1 & US, 5143854, A & US, 5405783, A & US, 5445934, A & US, 5510270, A	1-8

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

26. 11. 99

国際調査報告の発送日

07.12.99

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

深草 亜子



4 B

9548

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	小林修「コンビナトリアル合成 一組み合わせを利用して多数の化合物を合成する新技術」現代化学 (1996. July) Vol. 304 p. 26-33 p. 31右欄第4行～p. 33左欄第1行	1 - 8



P.B.5818 - Patentlaan 2
2280 HV Rijswijk (ZH)
☎ +31 70 340 2040
TX 31651 epo nl
FAX +31 70 340 3016

**Europäisches
Patentamt**

Zweigstelle
in Den Haag
Recherchen-
abteilung

**European
Patent Office**

Branch at
The Hague
Search
division

**Office européen
des brevets**

Département à
La Haye
Division de la
recherche

Liesegang, Roland, Dr.
Boehmert & Boehmert
Franz-Joseph-Strasse 38
80801 München
ALLEMAGNE

FORRESTER & BOEHMERT

Eing.: - 7. Dez. 2000

Frist:

Datum/Date

06.12.00

Zeichen/Ref./Réf.

FB 9177

Anmeldung Nr./Application No./Demande n°/Patent Nr./Patent No./Brevet n°.

99938529.7-1213-JP9904459

Anmelder/Applicant/Demandeur/Patentinhaber/Proprietor/Titulaire

Hitachi Software Engineering Co., Ltd.

COMMUNICATION

The European Patent Office herewith transmits as an enclosure the European search report for the above-mentioned European patent application.

If applicable, copies of the documents cited in the European search report are attached.

☒ Additional set(s) of copies of the documents cited in the European search report is (are) enclosed as well.

09/554, 186
#4

REFUND OF THE SEARCH FEE

If applicable under Article 10 Rules relating to fees, a separate communication from the Receiving Section on the refund of the search fee will be sent later.





European Patent
Office

**SUPPLEMENTARY
EUROPEAN SEARCH REPORT**

Application Number
EP 99 93 8529

DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT			
Category	Citation of document with indication, where appropriate, of relevant passages	Relevant to claim	CLASSIFICATION OF THE APPLICATION (Int.Cl.7)
X	DE 197 31 479 A (HEWLETT-PACKARD CO.) 6 August 1998 (1998-08-06) * column 4, line 50 - line 51 * * column 5, line 38 - line 55 * * column 11, line 30 - line 49 * * column 13, line 13 - column 14, line 15 * * * figures 1A-1F *	1-8	C12M1/00 C12Q1/68 G01N35/00 B01J19/00 G06F19/00 //C12N15:09
P,X	-& US 5 812 272 A (DAVID A. KING ET AL.) 22 September 1998 (1998-09-22) * column 4, line 9 - line 10 * * column 4, line 55 - column 5, line 2 * * column 9, line 41 - line 65 * * column 11, line 32 - line 57 * * figures 1A-1F *	1-8	
X	US 5 677 197 A (GARY B. GORDON ET AL.) 14 October 1997 (1997-10-14) * column 4, line 7 - line 26 * * column 2 *	1,2	
A	EP 0 695 941 A (AFFYMAX TECHNOLOGIES) 7 February 1996 (1996-02-07) * abstract * * column 7, line 41 - line 50 * * figures 5A,5B *	1-8	TECHNICAL FIELDS SEARCHED (Int.Cl.7) B01J G06F G01N
A	DE 43 10 169 A (OLYMPUS OPTICAL CO., LTD.) 30 September 1993 (1993-09-30) * the whole document *	1-8	
A	WO 96 05488 A (SCIENCE APPLICATIONS INTERNATIONAL & THE SALK INSTITUTE) 22 February 1996 (1996-02-22) * abstract * * claims; figures *	1-8	
The supplementary search report has been based on the last set of claims valid and available at the start of the search.			
Place of search THE HAGUE		Date of completion of the search 28 November 2000	Examiner Stevnsborg, N
CATEGORY OF CITED DOCUMENTS X : particularly relevant if taken alone Y : particularly relevant if combined with another document of the same category A : technological background O : non-written disclosure P : intermediate document T : theory or principle underlying the invention E : earlier patent document, but published on, or after the filing date D : document cited in the application L : document cited for other reasons & : member of the same patent family, corresponding document			

EPO FORM 1503 03.82 (P04C04)



European Patent
Office

**SUPPLEMENTARY
EUROPEAN SEARCH REPORT**

Application Number
EP 99 93 8529

DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT			
Category	Citation of document with indication, where appropriate, of relevant passages	Relevant to claim	CLASSIFICATION OF THE APPLICATION (Int.Cl.7)
A	EP 0 665 293 A (HAMAMATSU PHOTONICS K.K.) 2 August 1995 (1995-08-02) ---		
E	US 5 968 728 A (GARY D. PERTTUNEN & WILLIAM L. REBER) 19 October 1999 (1999-10-19) * the whole document * -----	1-8	
			TECHNICAL FIELDS SEARCHED (Int.Cl.7)
The supplementary search report has been based on the last set of claims valid and available at the start of the search.			
Place of search THE HAGUE		Date of completion of the search 28 November 2000	Examiner Stevnsborg, N
CATEGORY OF CITED DOCUMENTS X : particularly relevant if taken alone Y : particularly relevant if combined with another document of the same category A : technological background O : non-written disclosure P : intermediate document T : theory or principle underlying the invention E : earlier patent document, but published on, or after the filing date D : document cited in the application L : document cited for other reasons & : member of the same patent family, corresponding document			

2

EPO FORM 1503 03/82 (P04C04)

**ANNEX TO THE EUROPEAN SEARCH REPORT
ON EUROPEAN PATENT APPLICATION NO.**

EP 99 93 8529

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned European search report.
The members are as contained in the European Patent Office EDP file on
The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

28-11-2000

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)	Publication date
DE 19731479	A	06-08-1998	US	5812272 A	22-09-1998
			JP	11044647 A	16-02-1999
<hr/>					
US 5677197	A	14-10-1997	NONE		
<hr/>					
EP 695941	A	07-02-1996	AU	2943695 A	04-01-1996
			EP	0764214 A	26-03-1997
			JP	8166387 A	25-06-1996
			JP	10505410 T	26-05-1998
			WO	9533846 A	14-12-1995
			US	5945334 A	31-08-1999
			US	6140044 A	31-10-2000
<hr/>					
DE 4310169	A	30-09-1993	JP	5273216 A	22-10-1993
<hr/>					
WO 9605488	A	22-02-1996	AU	700067 B	17-12-1998
			AU	4425996 A	07-03-1996
			CA	2197068 A	22-02-1996
			EP	0775298 A	28-05-1997
			JP	10507518 T	21-07-1998
<hr/>					
EP 0665293	A	02-08-1995	JP	7203998 A	08-08-1995
<hr/>					
US 5968728	A	19-10-1999	NONE		
<hr/>					



ÉPA/EPO/OEB
D-80298 München
+49 89 2399-0
TX 523 656 epmu d
FAX +49 89 2399-4465

Europäisches
Patentamt

European
Patent Office

Office européen
des brevets

Generaldirektion 2

Directorate General 2

Direction Générale 2

Liesegang, Roland, Dr.
Boehmert & Boehmert
Pettenkoferstrasse 20-22
80336 München
ALLEMAGNE

FORRESTER & BOEHMERT	
Eing.:	25. März 2002
Frist:	20.07.02
<i>AB</i>	
<i>T.B. + kl</i>	

Telephone Numbers: Branch at The Hague

Primary Examiner (substantive examination) +31 70 340-3019

Formalities Officer / Assistant (Formalities and other matters) +31 70 340-2553



Application No. 99 938 529.7-1213	Ref. FB 9177	Date 20.03.2002
Applicant Hitachi Software Engineering Co., Ltd.		

Communication pursuant to Article 96(2) EPC

The examination of the above-identified application has revealed that it does not meet the requirements of the European Patent Convention for the reasons enclosed herewith. If the deficiencies indicated are not rectified the application may be refused pursuant to Article 97(1) EPC.

You are invited to file your observations and insofar as the deficiencies are such as to be rectifiable, to correct the indicated deficiencies within a period

of **4** months

from the notification of this communication, this period being computed in accordance with Rules 78(2) and 83(2) and (4) EPC.

Amendments to the description, claims and drawings are to be filed where appropriate within the said period in **three copies** on separate sheets (Rule 36(1) EPC).

Failure to comply with this invitation in due time will result in the application being deemed to be withdrawn (Article 96(3) EPC).



STEVNSBORG N
Primary Examiner
for the Examining Division

Enclosure(s): 3 page/s reasons (Form 2906)
US-A-5 736 332



The examination is being carried out on the following application documents:

Text for the Contracting States:

DE FR GB

Description, pages:

1-18 as originally filed

Claims, No.:

1-8 as received on 07.01.2002 with letter of 07.01.2002

Drawings, sheets:

1/9-9/9 as originally filed

1. The following document is cited by the examiner (see the Guidelines, C-VI, 8.5 and 8.9). A copy of the document is annexed to the communication and the numbering will be adhered to in the rest of the procedure:

D3: US-A-5 736 332

2. The amendments filed with the Applicant's letter of 07.01.2002 are allowable under Article 123(2) EPC.

3. Although the amended claim 1 now overcomes the novelty objection raised in the communication of the Examining division of 14.09.2001, the application nevertheless does not meet the requirements of EPC insofar as the claim lacks novelty with respect to D3.

i. According to the wording of the amended claim 1, the biochip comprises **"a surface to be spotted with a plurality of biopolymers in a predetermined pattern"**, and an **"information" "storage medium"** including an **"IC memory"**, which is connected to a **"looped antenna"** for **"reading/writing of information in a non-contact state"**.

As far as the expression **"a surface to be spotted with a plurality of biopolymers in a predetermined pattern"** is concerned, this is to be interpreted as merely being "a



surface **suitable of being** spotted with a plurality of biopolymers in a predetermined pattern" which, moreover, is clearly acknowledged by the Applicant in his letter of 07.01.2002: "a surface... **not yet spotted with a plurality of polymers**" (see page 2, paragraph 4).

D3 discloses a solid phase device for attaching oligonucleotide probes to its surface and comprising a transponder. One embodiment thereof is manufactured from a silicon wafer, wherein the solid phase transponder device comprises a non-contact read/write EEPROM memory device, an antenna in the form of a loop, and having a surface for derivatisation or immobilisation of biomolecules. The memory of the transponder is encoded with information on the sequence of the oligonucleotide before, during or after the biological material is deposited on the surface of the transponder. (See column 1, lines 49-56; column 2, lines 38-53; column 6, lines 12-57; figures 1, 3, 4, 5).

Claim 1 is therefore not allowable according to Articles 52(1) and 54 EPC.

ii. Moreover, the subject matter of the dependent claim 4 is also disclosed in D3 and therefore also not allowable according to Articles 52(1) and 54 EPC.

4. The subject matter of claims 2, 3, 5, 6, 7 and 8 is novel over the prior art.

Nevertheless, the subject matter of claims 2, 3, 5, 6, 7 and 8 lack an inventive step for the following reasons:

i. The feature of claim 2 that a plurality of biopolymers is spotted on the surface is inherently disclosed in D3, insofar as the term "**plurality**" does not convey any further meaning than two or more biopolymer **molecules**, irrespective of whether they are the same or different, are spotted on the surface.

ii. The general problem to be solved, i.e. to overcome the prior art problem of identifying the chemical entities on a biochip using two pieces of information written on separate components (see present application page 2, paragraph 2), and its solution, i.e. to integrate a memory into a biochip so as to store information on the spotted chemical entities (see present application page 2, paragraph 4), is already known from the disclosures of D1 (US-A-5 677 197) and D2 (DE-A-197 31 479). The subject matter



of claims 3, and 5-8 is therefore considered obvious in view of these disclosures, insofar as the providing of an information storage device comprising an IC memory and a loop antenna has already been used for a similar purpose in a similar device an method, such as disclosed in D3.

iii. The subject matter of claims 3, and 5-8 is therefore not allowable according to Articles 52(1) and 56 EPC.

5. The above objections notwithstanding, the application does not meet the requirements of Article 84 because claims 7 and 8 lack clarity.

i. Claims 7 and 8 relate to the **use** of a biochip but nevertheless comprise features relating to the **manufacturing** thereof, such as the spotting of biopolymers on the surface of a biochip thereby resulting in a lack of clarity (cf. Guidelines, C-III; 4.9).

6. It is not at present apparent which part of the application could serve as a basis for a new, allowable claim and the Applicant is advised to withdraw the application.

Should the applicant nevertheless regard some particular matter as patentable, an independent claim should be filed taking account of Rule 29(1) EPC. The applicant should also indicate in the letter of reply the difference of the subject-matter of the new claim vis-à-vis the state of the art and the significance thereof in terms of inventive step, using the problem-solution approach.

7. The attention of the applicant is drawn to the fact that the application may not be amended in such a way that it contains subject-matter which extends beyond the content of the application as filed (Article 123(2) EPC).

In order to facilitate the examination of the conformity of the amended application with the requirements of Article 123(2) EPC, the applicant is requested to clearly identify the amendments carried out, irrespective of whether they concern amendments by addition, replacement or deletion, and to indicate the passages of the application as filed on which these amendments are based.

If the applicant regards it as appropriate these indications could be submitted in handwritten form on a copy of the relevant parts of the application as filed.

PCT

E F US

国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)
〔PCT18条、PCT規則43、44〕

出願人又は代理人 の書類記号 PH-661-PCT	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220) 及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP99/04459	国際出願日 (日.月.年) 19.08.99	優先日 (日.月.年) 09.09.98
出願人(氏名又は名称) 日立ソフトウェアエンジニアリング株式会社		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 1 図とする。 ☒ 出願人が示したとおりである。

☐ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁶ C12M1/00, C12Q1/68, G01N35/00 // C12N15/09

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁶ C12M1/00, C12Q1/68, G01N35/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

WPI(DIALOG)
、 BIOSIS(DIALOG)
JOIS(JICST)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP, 5-26881, A (株式会社日立製作所) 2. 2月. 1993 (02. 02. 93) (ファミリーなし)	1 - 8
Y	JP, 6-507498, A (アボット・ラボラトリーズ) 25. 8月. 1994 (25. 08. 94) 第 6 頁右上欄第16-18行 & WO, 92/22802, A1	1 - 8
P, Y	Vivian G. Cheung et al. "Making and reading microarrays" Nature genetics supplement (1999 Jan.) Vol. 21 p. 15-19	1 - 8
A	JP, -505763, A (アフィマックス テクノロジーズ) 8. 10月. 1992 (08. 10. 92) & WO, 90/15070, A1 & EP, 476014, A & EP, 619321, A1 & US, 5143854, A & US, 5405783, A & US, 5445934, A & US, 5510270, A	1 - 8

☒ C 欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の 1 以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

26. 11. 99

国際調査報告の発送日

07.12.99

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

深草 亜子



4 B

9548

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	小林修「コンビナトリアル合成 ―組み合わせを利用して多数の化合物を合成する新技術―」現代化学 (1996. July) Vol. 304 p. 26-33 p. 31右欄第4行～p. 33左欄第1行	1 - 8

コンビナトリアル合成

——組合わせを利用して

多数の化合物を合成する新技術——

小林 修

コンビナトリアル合成は、組合わせを利用して多数の化合物を一度に効率よく合成することのできる新しい技術である。現在、医薬品開発の分野で注目を集めているが、多数の化合物を合成してその中から目的とする化合物を見いだしてゆく基本的なコンセプトは、今後、さまざまな分野への応用が可能であり、次世代の基盤技術として期待されている。

コンビナトリアル・ケミストリーと コンビナトリアル合成

最近、おもに医薬品開発の分野で、「コンビナトリアル・ケミストリー (combinatorial chemistry)」という新しい技術が注目を集めている。「コンビナトリアル」という単語にはなじみの薄い読者も多いと思われるが、数学の「組合わせ解析」が「コンビナトリアル・アナリシス (combinatorial analysis)」の訳語で、こちらのほうはいくらかなじみのある方もあるだろう。「コンビナトリアル」を「組合わせ」と訳すと、「コンビナトリアル・ケミストリー」は「組合わせ化学」ということになるが、語感からそのまま「コンビナトリアル・ケミストリー」としておいたほうがよさそうである (化学工業で用いられる「コンビ

ナート (kombinat, 英語の combination に当たるロシア語)」に由来しているという説もある)。では、「コンビナトリアル・ケミストリー」とは何か。この定義は案外と難しい。というのは、「コンビナトリアル・ケミストリー」自体、歴史が浅く、現在発展途上にあり、次々と新しい技術が導入されているからである。しかし、あえて奮勇を振るうと、「組合わせを利用して多数の化合物群 (ライブラリー) を効率的に合成し、それらの化合物をさまざまな目的に応じて活用してゆく技術」と統括できようか。中でも、組合わせによって多数の化合物群を一度に合成する手法は、「コンビナトリアル合成 (combinatorial synthesis)」と呼ばれ、「コンビナトリアル・ケミストリー」の中心に位置付けられる (図1)。

実は、このコンビナトリアル合成は、ペプチド、オリゴ糖、オリゴヌクレオチドなどの生体高分子のライブラリー合成において注目を集めてきた。中でも、ペプチド、オリゴヌクレオチドについては、すでに全自動合成機も市販されていて、広く用いられている。ペプチド類は高い生物活性が期待されるが、その多くは水への溶解性が低い上に、生体内の酵素によって容易に分解されてしまう。このため、医薬品としてペプチド類より有望視されている低分子化合物 (一般に、分子量 500 以下の化合物。ペプチド類に比べて分子量が小さいのでこのような呼称が用いられている) へのコンビナトリアル合成の適用が模索され、ここにきて一気に展開が始まった感がある。その先導役の一翼を担っているのがアメリカのベンチャー企業である。これまで数年かかっていたリード化合物 (医薬品のもととなる化合物) の探索が、彼らの合成した化合物群 (ライブラリー) を用いることによって数週間で達成されたとか、大手製薬企業がそれらのベンチャー企業を高額で買収、あるいは協力関係を結ん

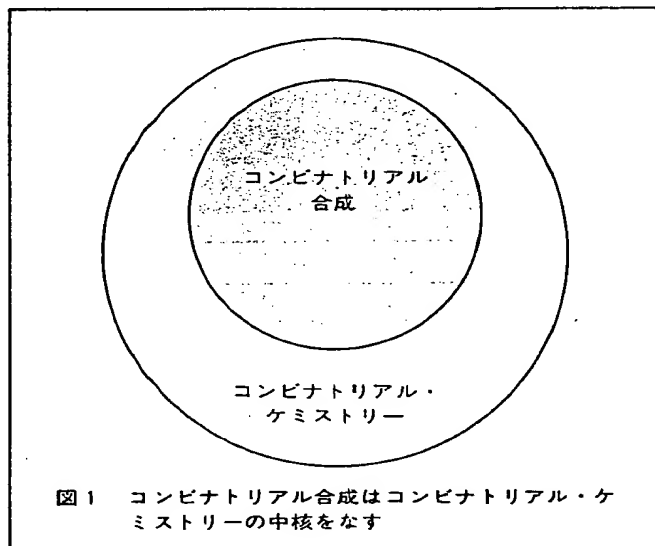


図1 コンビナトリアル合成はコンビナトリアル・ケミストリーの中核をなす

だとか、いささか過熱気味の報道も目立つ。ここでは原点に立ち返り、純粋科学としてのコンビナトリアル合成の基本的な考え方に加え、ライブラリー構築の実例に焦点をあてて解説する。

ライブラリーの構築

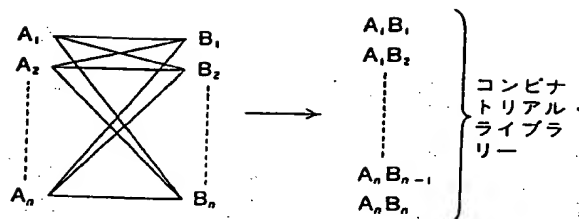
図2にこれまで行われてきた合成と「コンビナトリアル合成」を模式的に示した。前者がAとBから単一の化合物であるABを得るのに対して、後者では A_1 から A_n と B_1 から B_n の組合せをすべて一度に反応させる。たとえば、 A_1 から A_n まで100の化合物があり、 B_1 から B_n まで同じく100の化合物があるとする、 $100 \times 100 = 10,000$ 種類の化合物を一度に合成するものである。ここで合成された化合物群（ライブラリー）をコンビナトリアル・ライブラリー (combinatorial library) という。

コンビナトリアル合成によってライブラリーを構築する方法としては、現在おもにスプリット合成 (split synthesis) とパラレル合成 (parallel synthesis) の二つの方法が用いられている。さて、ここでこれらの二つの方法を説明する前に、コンビナトリアル合成が行われる反応場について触れておきたい。コンビナトリアル合成の反応は、基本的には固相、液相どちらでも行うことができるが、現在は固相を用いる方法が主流になっている。固相合成法には、後述するように「樹脂 (ビーズ)」を用いる方法と「ピン」を用いる方法がある。固相反応は、1963年、R. B. Merrifieldによって開発された、樹脂を用いるペプチドの固相合成法をベースにするものであり、液相法に比べていくつかの優れた特長がある。何よりも、操作が簡便である。未反応の試薬や過剰量の化合物を単に洗い流すだけで除去することができる。したがって、反応の自動化も可能であり、ライブラリー構築には都合がよい。これから説明するスプリット合成はほとんど固相で行われる。これに対して、パラレル合成は固相でも液相でも行うことができる。

スプリット合成の例を、三つの化合物群 $A_1 \sim A_3$ 、 $B_1 \sim B_3$ 、 $C_1 \sim C_3$ を順次反応させてゆく簡単な系で示した(図3)。まず、樹脂に担持した A_1 、 A_2 、 A_3 を均一に混合した後、これを3等分し、それぞれに B_1 、 B_2 、 B_3 を作用させる。反応後、 B_1 と反応させた容器には末端に B_1 を含む3種類の樹脂が含まれており、同様に B_2 と反応させた容器には末端に B_2 を含む3種類の樹脂が含まれており、 B_3 とは反応させた容器には末端に B_3 を含む3種類の樹脂が含まれている。したがって、この段階で合計9種類の樹脂が合成されたことになる。ここで、ふたたびこれらの樹脂を均一に混合した後、これを3等分し、それぞれに C_1 、 C_2 、 C_3 を作用させる。今度は9種類ずつ、合計27種類の樹脂が合成される。この方法によれば、膨大な数の化合物を含むライブラリーを迅速に構築することが可能で、たとえば、天然型のアミノ酸20種類を3回反応させると、 $20 \times 20 \times 20 = 8,000$ 種類、4回反応させ



通常の合成



コンビナトリアル合成

図2 「通常の合成」と「コンビナトリアル合成」

ると16万種類、5回反応させると320万種類のペプチドが合成できることになる。通常、このような混合物を反応させた場合、反応基質の反応性の違いによって、必ずしも考えられる組合せのすべての化合物が合成できるとは限らないが、スプリット合成では、混合、等分、反応を繰返すことによってこの問題点を解決している。しかし、この方法では、得られるライブラリーは混合物であり、合成した化合物をいかに評価し、また、優れた活性を示した化合物をいかに特定し、構造を知るかが問題で、さまざまな工夫がなされている(後述)。

一方、パラレル合成は、個々の化合物を混合物ではなく単一の化合物として別の容器で合成するものである。基本的には物理的に仕切られた空間があればよい。たとえば、96穴のプレートを用いて、反応はそれぞれの穴(くぼみ)でロボットを用いて自動的に行い、そのまま活性をテストするようなシステムも開発されている。パラレル合成では、システムティックなプログラムを組めば、反応容器の位置で生成物がわかる(図4)。この方法によれば、単一の化合物が得られるため、化合物の評価、構造決定は簡単である。反面、スプリット合成に比べるとライブラリーに含まれる化合物の数は少なくなりがちである。また、化合物が増えれば増えるほど、自動化が必須となる。

このように、スプリット合成とパラレル合成には一長一短がある。しかし、医薬品の開発においても、コンピューター化学の進歩に伴い、それほど膨大な化合物群を合成せずとも、コンピューターである程度化合物の数を絞ってからコンビナトリアル合成を行えばよい、という考えが生まれつつある。この場合には、単一の化合物が得られるパラレル合成が、構造決定も容易で、真の活性物質を見逃す可能性も低い点から望ましい。また、将来、コンビナトリアル合成を、医薬品に限らず多機能を有する化合物の探索に用いることのできる基盤技術としてとら

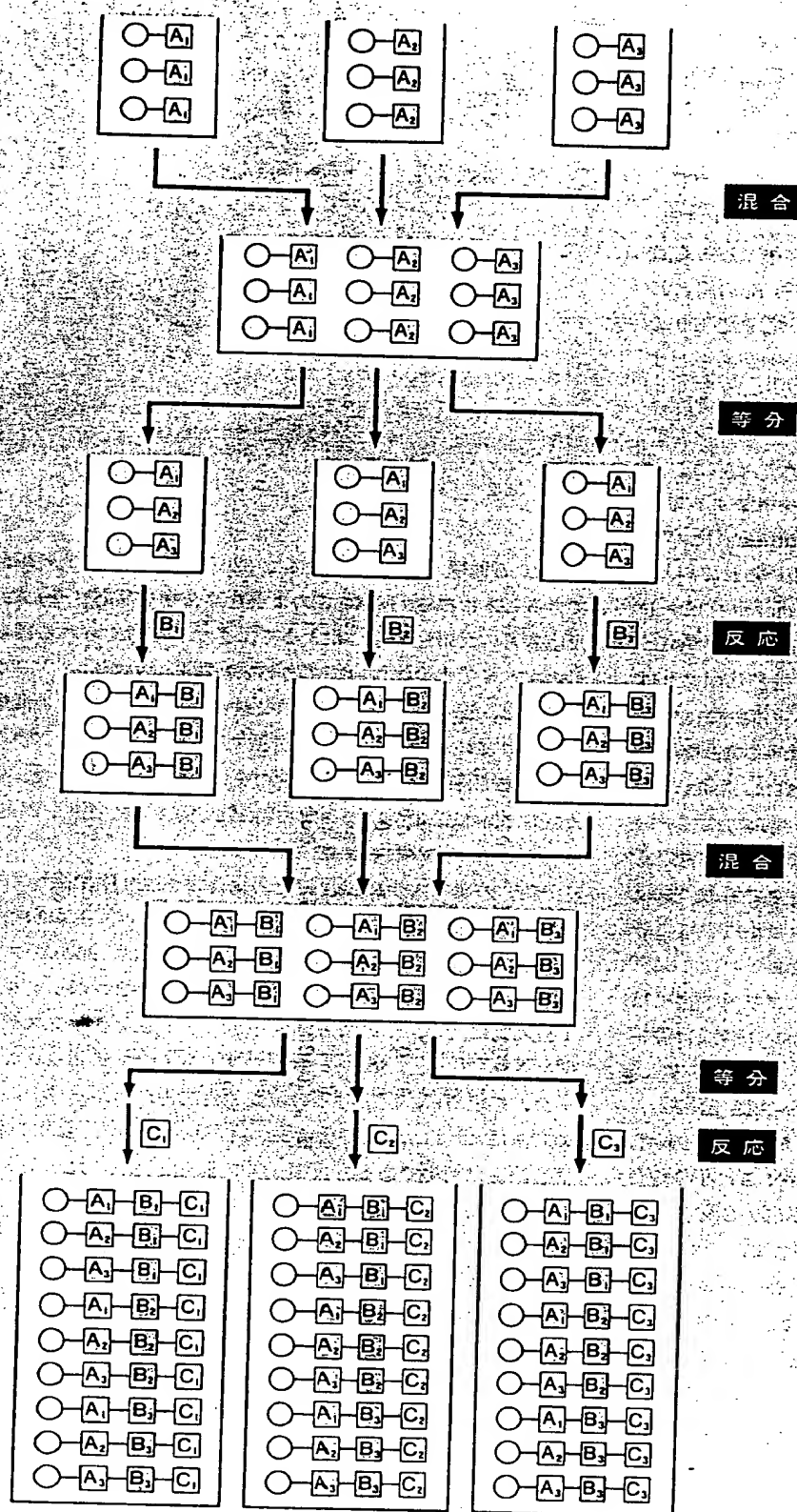


図3 スプリット合成

えた場合、やはり、十分な有機合成化学の基礎に支えられたパラレル合成が主流になってゆることが予想される。

ライブラリー合成の実際

次に、実際どのようにしてライブラリーが構築されるかについて、最近急速に発展している低分子化合物ライブラリーを例として紹介する。

1,4-ベンゾジアゼピン類は、キナゾリン誘導体の探索合成の過程で発見された複素環化合物であり、中枢系などに対し、興味深い生物活性を有する。J. A. Ellmanらは、図5に示すルートにしたがって、固相反応を用いる1,4-ベンゾジアゼピンライブラリーの構築法を開発した。この方法にはいくつかの鍵段階があるが、その一つはStillカップリング反応（パラジウム触媒を用い、アリールスズ化合物とカルボン酸塩化物から芳香族ケトンを得る反応）を用いる2-アミノベンゾフェノン部分の合成である。1,4-ベンゾジアゼピン類(4)において2-アミノベンゾフェノン部分は活性発現に最も重要な部分と考えられているが、入手可能な2-アミノベンゾフェノン誘導体は少なく、これを用いるライブラリー構築には限界がある。そこで彼らは、固相に結合させたアニリン誘導体に対し、ベンゼン環をもつカルボン酸塩化物を用いてStillカップリング反応を行い、2-アミノベンゾフェノン誘導体を効率よく合成するルートを考案した。この方法によれば、500種類以上ある市販のカルボン酸塩化物を用いて2-アミノベンゾ

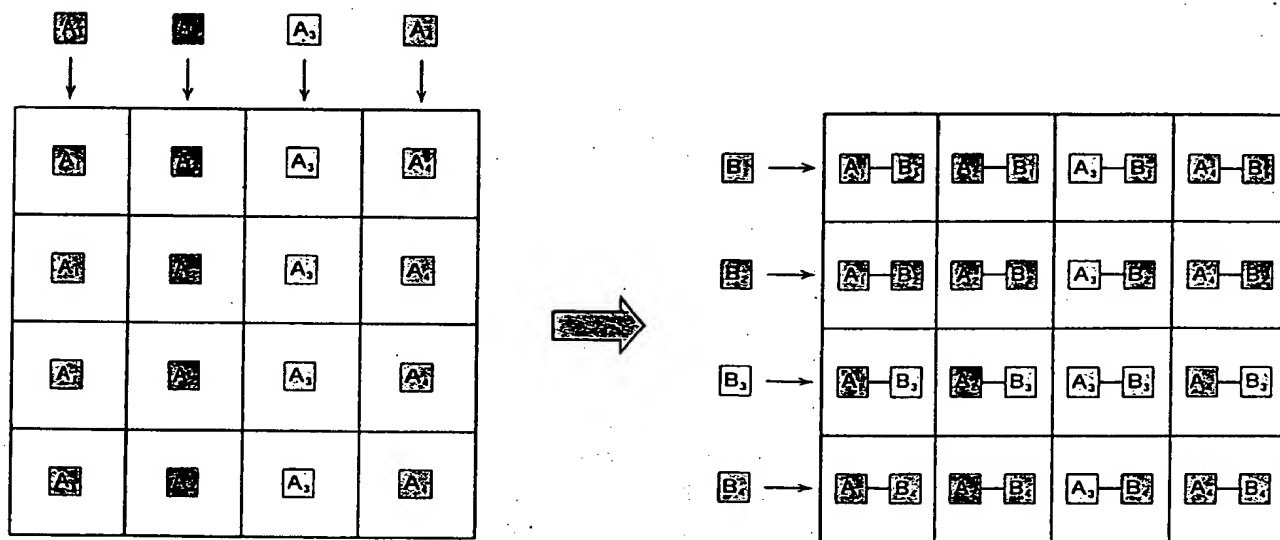


図4 パラレル合成

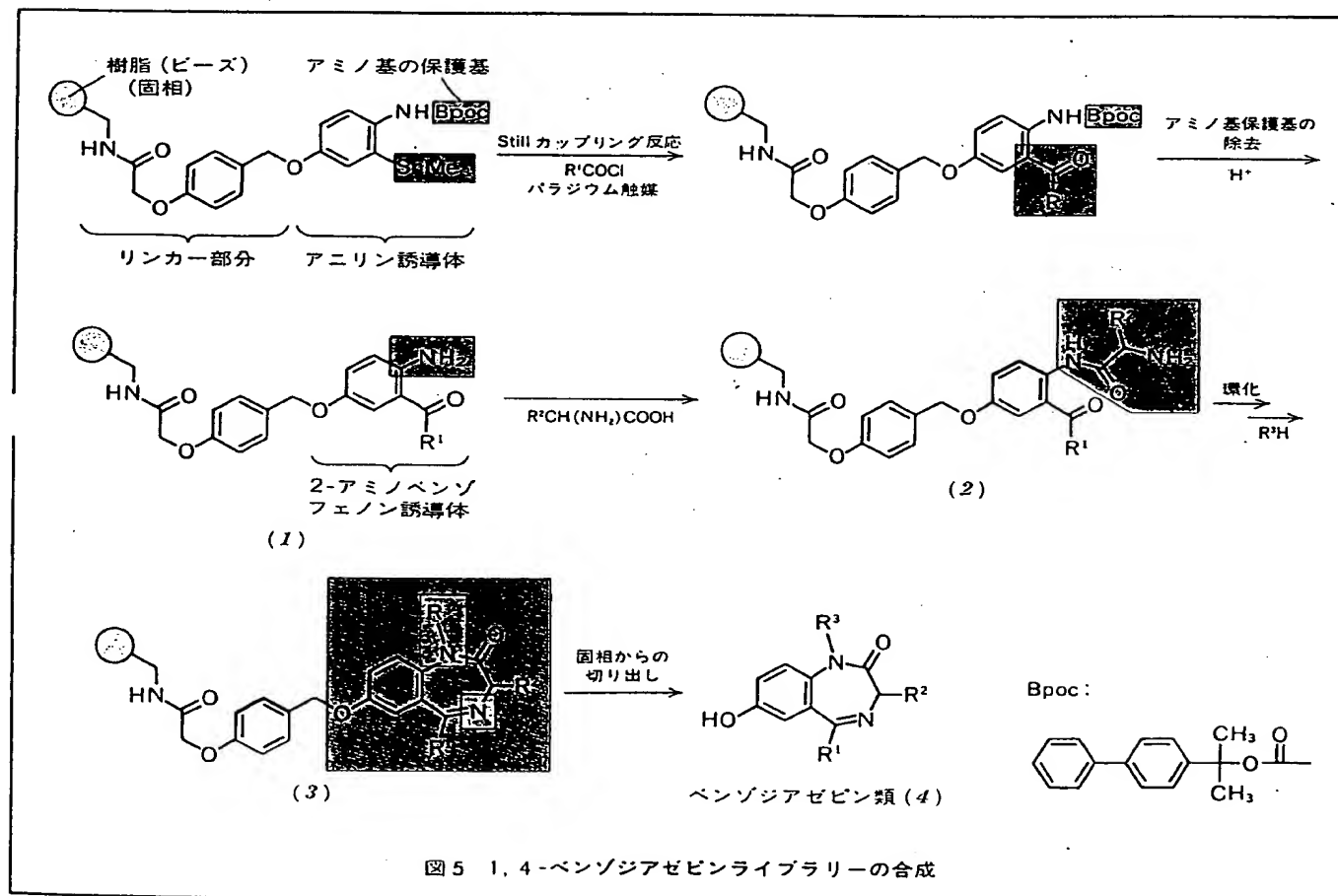


図5 1,4-ベンゾジアゼピンライブラリーの合成

フェノン部分を構築できるため、ライブラリーの質は飛躍的に向上した。合成を進める上でもう一つの重要な点は、アミノ基の保護基の選択である。彼らは、スズ化合物合成および Still カップリング反応の条件下で安定な Bpoc 基 (2-(4-ビフェニル) イソプロピルオキシカルボニル基) を用いた。この保護基は、リンカー (スパーサー) 部分にまったく影響を与えない弱酸性条件で除去することができる。こうして得られた (1) にアミノ酸を反応させて (2) とし、環化させた後 *N*-アルキル化し ((3)), 最後に樹脂から切り出すことにより、1,4-ベンゾジアゼピン類 (4) を得た。この方法によれば、 R^1 , R^2 , R^3 のさまざまな組み合わせが可能であり、多数のライブラリー構築に威力を発揮するものと期待される。

このように、固相での炭素-炭素結合生成反応を利用したライブラリー構築が活発に研究されているが、通常液相で行われている有機合成反応をそのまま固相で行うと、しばしば収率の低下が見られる。固相での多段階反応は操作が簡便とはいえ、まだまだ収率面での問題が多い。

これに対して、3成分ないし4成分を一度に縮合させることのできる反応 (多成分縮合反応) が、ライブラリー構築に威力を発揮することが明らかにされている。この反応は、上記の1,4-ベンゾジアゼピン類のライブラリー構築法が「直線型合成」とすると、「分岐型合成」に相当し、収率面での優位性が期待され

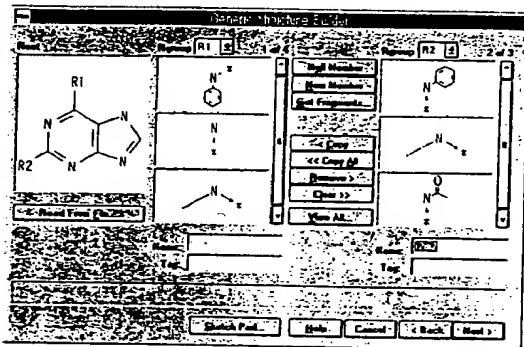
る。

Ugi 反応は、カルボン酸、第一級アミン、アルデヒドまたはケトン、イソニトリルの4成分を縮合して、 α -アミノカルボン酸アミド誘導体を与える反応である (図6)。R. W. Armstrong らは、ポリスチレン樹脂に担持したカルボン酸を用いて Ugi 反応を行い、この反応が α -アミノカルボン酸エステル誘導体やピロール誘導体のライブラリー構築に有効であることを明らかにしている。

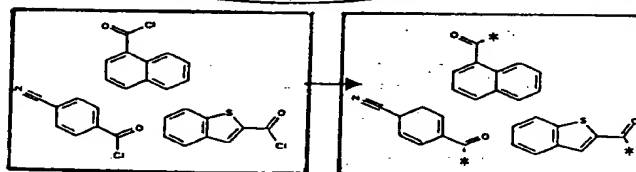
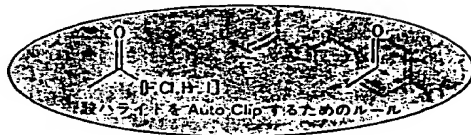
一方、筆者らも多成分縮合反応を活用して、キノリンライブラリーの効率的な構築法を開発している。*N*-アリルイミンとアルケンとの [4+2] 型の反応は、ルイス酸の存在下で進行し、キノリン誘導体を与えることが知られているが、しばしば収率の低下がみられ、また、用いることのできる反応基質の一般性にも限りがある。ここで、筆者らは、独自に開発した希土類金属トリフラート触媒 (トリフラート基は $-\text{OSO}_2\text{CF}_3$) を用いると、アルデヒド、アミン、アルケンの3成分を単に混合するだけで、キノリン誘導体が高収率で得られることを見出した。この反応は一般性も高く、そのまま液相でのコンビナトリアル合成に応用することも可能であると考えられるが、より効率のよい手法として、高分子に固定化した新規希土類金属トリフラート触媒を開発し、これを用いるキノリン誘導体合成を実現した (図7)。すなわち、新規高分子触媒存在下、ほぼ等モル

PROJECT LIBRARY & ISIS

Combinatorial Chemistry に伴う膨大な構造情報、及びその関連データをプロジェクトレベルで管理できます。



Building Blocks データベースからフラグメントを呼び出し、ルート構造と R-Group メンバーを簡単に登録する事ができます。



試薬

発生した Building Blocks

R グループのメンバーの候補となるフラグメントを ACD (試薬データベース) 等より検索し、特定のルールに基づいて、自動的に Building Blocks データベースに登録します。

CTC ラボラトリーシステムズ株式会社

TEL: 03-3419-9171 FAX: 03-3419-9179
E-mail: project@ctcls.co.jp, isis@ctcls.co.jp

量のアルデヒド、アミン、アルケンまたはアルキンを一定時間混合し、貧溶媒を加えて反応を停止した後、ろ過する。ろ液をそのまま濃縮すると、ほぼ純粋なキノリン誘導体が得られる。一方、高分子触媒は繰返し使用することが可能であり、フィルター上に残った触媒を用いてふたたび反応を行うこともできる。現在市販されているアルデヒド、芳香族アミンはそれぞれ200種以上、アルケン50種以上あり、これらを組み合わせれば単純計算で200万を超えるキノリンライブラリーの構築が可能になる。これまでのコンビナトリアル合成では生成物を固相上で合成するため、得られる生成物の量は用いる固相の量に依存し、通常数〜数十mgなのに対して、この方法によれば、数百mg以上、場合によってはグラム単位の合成も可能なことは特筆すべき点であり、コンビナトリアル合成の新しい手法として期待される。

暗号化による構造決定と ピン法による合成

非ペプチド、特に低分子化合物を対象としたコンビナトリアル合成の研究は、端緒についたばかりである。したがって、コンビナトリアル合成自体、確立した方法論はまだなく、合成方法、反応場(固相または液相)、分析方法、構造決定など、研究者によってさまざまな工夫がなされているのが現状である。こ

こでは、最近話題になっている、スプリット合成において活性物質を特定するための暗号化の手法と、プラスチックのピンの先端で固相合成をおこなう「ピン」法について紹介する。

スプリット合成では生成物が混合物として得られるので、活性をテストして、あるサンプルが優れた活性を示しても、その活性物質を特定して構造を知るのが容易でない。そこで、この化合物特定のため、合成の情報を暗号化して化合物に記すための工夫がいろいろとなされている(encoding)。その中で、ライブラリー合成時に合成ステップと用いた試薬を示す名札(タグ)をつけて、活性のあったビーズ(樹脂)のタグを分析することでその化合物の構造を特定する方法が開発されている。W. C. Stillらは、ポリハロベンゼン化合物をタグに用い、タグを固相から切り離した後キャピラリーガスクロマトグラフィーで分析することにより、微量の活性物質の同定をも可能にしている。また、ごく最近、ビーズと記憶用チップを閉じ込めたカプセルが開発された(図8)。これは、図のように、浸透性をもつ球状カプセルの中に固相反応用のビーズと記憶用のマイクロチップを入れ、各段階の反応ごとに一定の周波数の高周波を当てて、マイクロチップに記憶させる。記憶させる内容は、反応させた化合物ばかりでなく溶媒や温度などの反応条件も可能である。後でマイクロチップを解析すれば、そのカプセルに入っていたビーズがどのような工程を経たかという履歴が即座にわか

SPORE (Solid Phase Organic REaction)

世界初 固相合成反応のデータベース

The screenshot shows the SPORE database interface. At the top is a menu bar with File, Edit, Options, Database, List, Window, and Help. Below the menu is a toolbar with buttons for New, Open, Save, Print, Find, and others. The main window is divided into several sections. On the left, there's a 'Solid Support' section with a chemical structure of a sulfonamide. In the center, there's a 'Polymer Support' section with a chemical structure of a polymer chain. On the right, there's a 'Name' section with a text box containing 'N-crosslinked polystyrene'. Below these sections are various input fields and buttons for encoding and searching. At the bottom, there's a 'Reference for Note' section with a list of references.

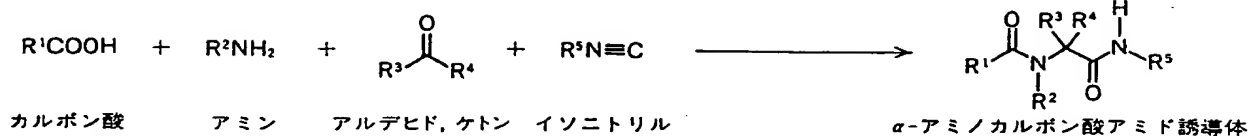
Combinatorial Libraryの設計を強力に支援致します。

- ・様々なコンディション下でのレンジ、リンカー、リガンド、保護基間のボンドの安定性の情報を調べることができます。
- ・固相のプロパティ情報、エンコーディングの情報についても言及しています。
- ・最新の情報を提供するために年4回のアップデートを予定しています。
- ・SPOREはMDL Information社のISISで検索することが可能です。

CTC ラボラトリーシステムズ株式会社

TEL: 03-3419-9171 FAX: 03-3419-9179
E-mail: spore@ctcls.co.jp

a Ugi 反応



b

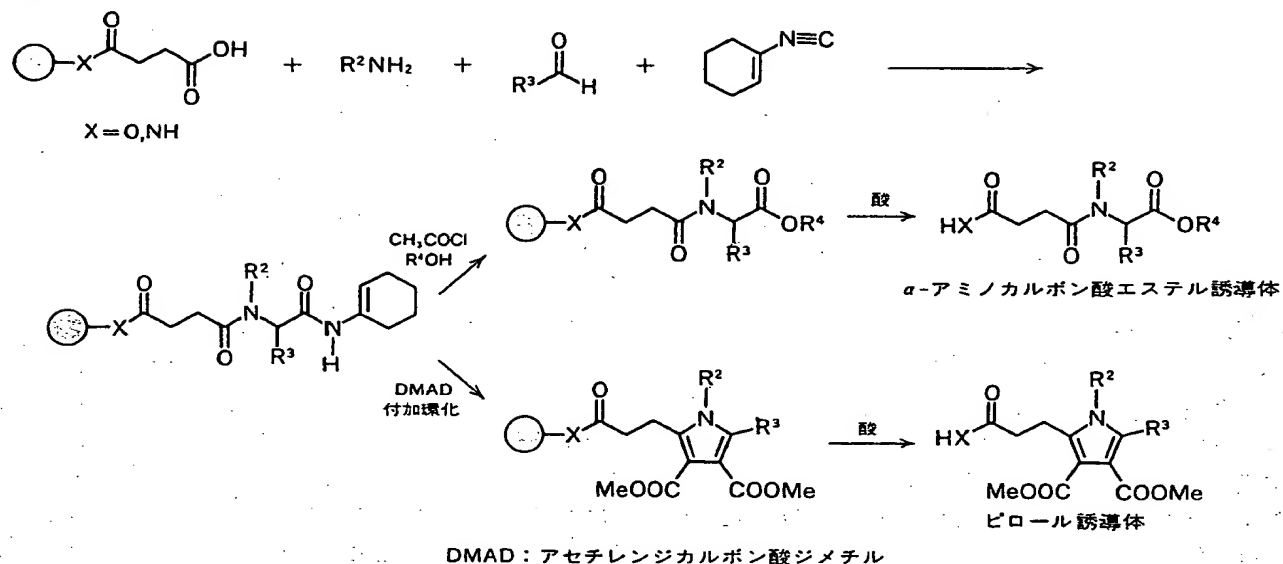
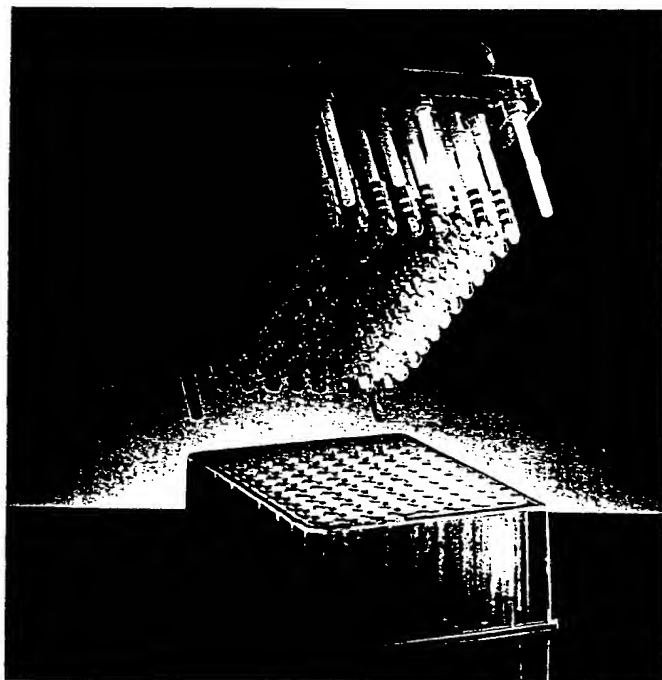
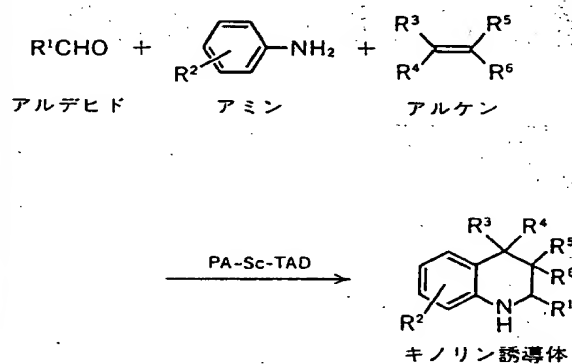


図6 Ugi 反応と α -アミノカルボン酸エステルおよびビロールライブラリーの合成



ピンの先端で反応を行う。

写真1 「ピン」法に使われる合成装置 (和光純薬工業株式会社提供)



PA-Sc-TAD: ポリアクリロニトリル骨格をベースにした高分子スキャンジウム触媒

アルデヒド, アミン, アルケンを混合するだけで多種類のキノリン誘導体が大量に合成できる。

図7 キノリンライブラリーの合成

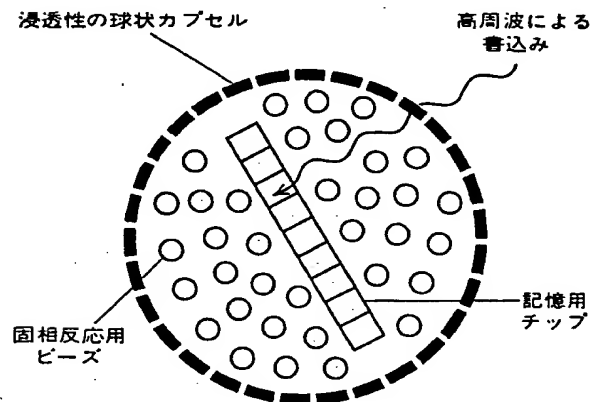


図8 反応用ビーズと記憶用チップを閉じ込めたカプセル

の仕組みになっている。

一方、プラスチックのピンの先端で固相合成を行う「ピン」法は、パラレル合成に威力を発揮する(写真1)。たとえば、12×8個のピン(反応時に浸食されにくいポリプロピレンベースの高分子製)の先端に固相反応を行うための「リンカー」を結合させ、その上でライブラリー構築のための化学反応を行う。反応後、リンカーから切り出して生成物を得るこのピン法は、ペプチド合成で発展してきた手法であるが、最近、一般合成用の新規リンカーも開発されている。生成物をポリマーから切り出してそのまま96穴プレートに移し、サンプルの活性テストを行うことも可能であるなど実用面で優れている。

21世紀へ向けての基盤技術としての コンビナトリアル合成

コンビナトリアル合成研究の歴史は浅く、今後さまざまな展開が期待される反面、その問題点も浮き彫りになってきている。コンビナトリアル合成では固相反応がしばしば用いられるが、液相では高収率で進行する反応が固相では低収率であったり、まったく進行しない場合も少なくない。これまでペプチド合成に用いられてきた高分子担体(マトリックス)や基質とマトリックスをつなぐリンカーが、有機金属錯体やルイス酸を用いる現代の有機合成化学反応に必ずしも適しているとはいえず、これらの開発も併せた基礎的な固相反応の開発が望まれる。一方、コンビナトリアル合成における多成分縮合反応の有用性が明らかにされつつあるが、真に有効な多成分縮合反応の数はまだまだ少ない。今後、この領域において有機合成化学者の活躍が期待される。

はじめに記したように、コンビナトリアル合成はコンビナト

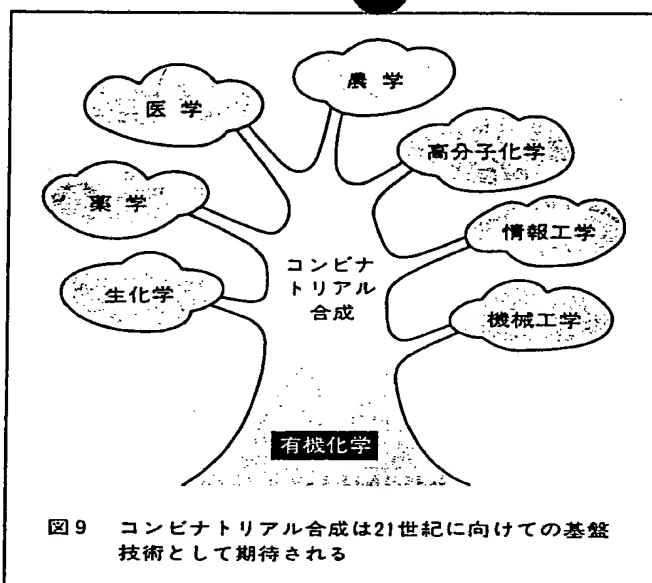


図9 コンビナトリアル合成は21世紀に向けての基盤技術として期待される

リアル・ケミストリーの中核をなし、その中心は有機合成化学である。しかし、高分子担体の設計や修飾、実用化を考えた場合のコンビナトリアル合成の自動化、また、先に紹介した記憶用マイクロチップの例を挙げるまでもなく、ハード、ソフトとも有機化学の分野にとどまらず、高分子化学、機械工学、情報工学などのサポートが必要なのは明らかである。今後の発展のためにはこれらの分野とのネットワークは欠くことができない。一方、真に有効なコンビナトリアル合成の手法は、医学、薬学、生物学、生化学、農学などの分野に多大な貢献をし、大きなインパクトを与えるであろう(図9)。

多数の化合物を合成し、それらの中から目的とする化合物を見いだしてゆくコンビナトリアル・ケミストリーのコンセプトは、単に医薬品開発に限らず、先端材料や香料、さらに基礎的なところでは配位子や触媒の開発にも適用できる。広範な化合物群をつくり出すことのできるコンビナトリアル合成の手法は、有機化学を中心に据えた21世紀へ向けての基盤技術として、大きな発展が期待される。

参考文献

さらに詳しく知りたい読者のために。

1. S. Borman, *Chem. Eng. News*, 74(7), 29(1996).
2. M. A. Gallop ほか, *J. Med. Chem.*, 37, 1233(1994).
3. E. M. Gordon ほか, *J. Med. Chem.*, 37, 1385(1994).
4. N. K. Terrett ほか, *Tetrahedron*, 51, 8135(1995).
5. G. Lowe, *Chem. Soc. Rev.*, 37, 309(1995).
6. J. S. Früchtel ほか, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 35, 17(1996).
7. J. A. Ellman ほか, *Chem. Rev.*, 96, 555 (1996).

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表平6-505763

第3部門第3区分

(43) 公表日 平成6年(1994)6月30日

(51) Int.Cl. ⁸	識別記号	庁内整理番号	F I
C 0 9 J 133/00	J D B	7921-4 J	
7/02	J J W	6904-4 J	
	J K E	6904-4 J	
201/00	J B C	7415-4 J	

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 7 頁)

(21) 出願番号 特願平4-506436
 (86) (22) 出願日 平成4年(1992)1月24日
 (85) 翻訳文提出日 平成5年(1993)8月2日
 (86) 国際出願番号 PCT/US92/00613
 (87) 国際公開番号 WO92/13924
 (87) 国際公開日 平成4年(1992)8月20日
 (31) 優先権主張番号 651, 468
 (32) 優先日 1991年2月6日
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (81) 指定国 EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IT, LU, MC, NL, SE), AU, BR, CA, CS, HU, JP, KR

(71) 出願人 ミネソタ マイニング アンド マニュファクチャリング カンパニー
 アメリカ合衆国, ミネソタ 55133-3427, セント ポール, ポスト オフィス ボックス 33427, スリーエム センター
 (72) 発明者 スティールマン, ロナルド エス.
 アメリカ合衆国, ミネソタ 55133-3427, セント ポール, ポスト オフィス ボックス 33427
 (74) 代理人 弁理士 宇井 正一 (外4名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 高せん断強さを有する位置決め能力のある接着剤系

(57) 【要約】

位置決め能力のある接着剤組成物が提供される。この組成物は、(a) 中空の、重合性の、固有に粘着性の微小球の水性懸濁液および(b) 水性のフィルム形成性感圧接着剤ラテックスのブレンド又は混合物を含んでなる。接着剤は、位置決め能力があり、受容体に適用後位置的調節を許容せしめ、しかし高剥離接着力とせん断強さを示す。

請求の範囲

1. 高せん断強さおよび剝離接着力を保持しつつ、基板に層として適用した場合、位置決め能力を示すことのできる水性接着剤組成物であって、以下の(a)および(b)の水性ブレンドを含んでなる前記組成物:

(a) 中空の、重合性の、不融性の、固形に粘着性のエラストマーの微小球の水性懸濁液; および

(b) 少なくとも1種の長鎖のアルキルアクリレートを含んでなる水性フィルム形成性感圧接着剤ラテックス。

2. 前記微小球が、少なくとも約85重量部の少なくとも1種のアルキルアクリレートもしくはメタクリレートエステルおよび約15重量部までの少なくとも1種の極性モノマーを含んでなる、請求の範囲第1項記載の組成物。

3. 固形を基準にして、前記ラテックスに対する前記微小球の重量割合が、約12:1から約39:1である、請求の範囲第1項記載の組成物。

4. 前記ラテックスが更に少なくとも1種の極性モノマーを含んでなる、請求の範囲第1項記載の組成物。

5. 製品の少なくとも一方の面の少なくとも一部に適用されている基板; 次の(a)および(b)を含んでなる位置決め能力のある接着剤のコーティングを含んでなる製品:

(a) 中空の、重合性の、不融性の、固形に粘着性のエラストマーの微小球の水性懸濁液; および

(b) 少なくとも1種の長鎖のアルキルアクリレートを含んでなる水性フィルム形成性感圧接着剤ラテックス。

6. 前記基板が、ポリ塩化ビニルフィルムである、請求の範囲第

明細書

高せん断強さを有する位置決め能力のある接着剤系

技術分野

本発明は、中空の、重合性のアクリレート、不融性の、固形に粘着性の微小球および重合性のフィルム形成性感圧ラテックス接着剤とを一緒にした混合物を含んでなる、高せん断強さおよび剝離接着力を示す、位置決め能力のある接着剤系に関する。

発明の背景

関連技術の記載

位置決め能力のある接着剤は、受容体上にそのような接着剤を含有する製品の配置を正確な位置に考慮するような接着剤である。何故ならば、製品は最初の配置後受容体に対して適合されているからである。

ある場合には、接着剤は再位置決め性もしくは繰返して再使用できるものとして設計できる。そのような接着剤は乾燥粘着性を示すがしかし低剝離接着性を示し、従って、繰返しの再使用可能性をもたらす。スリーエムブランドポストイット(Post-it)(登録商標)の如き商業製品は、このような接着特性を示す。

しかし、ここで用いられるような位置決め能力のある接着剤系は、一般に高い剝離接着力および配置の位置決め後の高せん断強さを示すこのような系は、帳簿文字又はビニルフィルムを用いる他の印刷システムの製造における如き有用性を示している。例えば、米国特許 3,314,838; 3,331,728および 3,413,168は、その中にもろいガラスのバブルを含有する通常のフィルム形成性の接着剤を基準にし

1項記載の製品。

7. 前記微小球が、少なくとも約85重量部の少なくとも1種のアルキルアクリレートもしくはメタクリレートエステルおよび約15重量部までの少なくとも1種の極性モノマーを含んでなる、請求の範囲第5項記載の製品。

8. 固形を基準にして、前記ラテックスに対する前記微小球の重量割合が、約12:1から約39:1である、請求の範囲第5項記載の製品。

9. 前記ラテックスが更に少なくとも1種の極性モノマーを含んでなる、請求の範囲第5項記載の組成物。

た位置決め能力の概念を開示する。位置決め能力は、コートされた製品の最初の適用中、ガラスバブルが最終の受容体に対する接着剤の不完全な表面接触を許容するという事実によって得られる。一応、製品を適当に位置決めすると、製品の面上の圧力は、ガラスバブルの破壊をもたらす、従って完全な表面は受容体と接触せしめられ、強力な接着を形成する。明らかに、一度もろいバブルが破壊すると、更に位置決め能力特性は失われる。加えて、もろいバブルを有する接着剤でコートした製品には、固形に製造工程が加えられ; 従って適用のために特別なライナーを更に要求する。

位置決め能力のある製品に対する報告された接着剤系は、米国特許第 3,691,140および 4,166,152に開示された微小球接着剤から、パターンコートされた通常の接着剤系までわたっている。このような微小球を有する接着剤系の定義は米国特許第 3,857,731に開示されており、ここでは結合材物質は微小球と混合されている。この後者の特許における幾つかの例において、結合剤はアクリレート感圧接着剤である。しかし、全ての場合に、微小球をそれ自身の接着特性は感圧接着剤によって見劣りされるものとは教示されていない。この場合、結合剤は、基板上に個々の微小球を機械的に保持するため物理的「ソケット(socket)」を造る。従って本発明の好ましくない微小品の受容体への移行を防止することが主張され、所望の接着力の保持が増加する。

米国特許 4,735,837は、類似のシステムを開示する。ここにおいて、固体の微小球を、バインダー樹脂と混合され、これは感圧接着剤と考えられている。この開示において、接着および再位置決め能力の特性は、微小球それ自身よりもむしろ感圧接着剤からくる。実際、特許は、微小球が接着能力を有することを要しない旨開示する。ヨーロッパ特許 209,337において次のように開示されている。す

なわち、固体微小球接着剤の基本的不足は、それらが過剰の移行を示すからである。この場合、反応性モノマーは、それらの製造中に接着剤微小球に含まれる。モノマーは、接着剤の重合中、未反応のまま減る。しかし、引続きバインダーおよび/又は裏打ちとの反応を受け50ニュートンまでのせん断値を与え、これは他の微小球を基盤としたシステムよりもより高く補利要求された。

前記とは異って、本発明者等は今や以下の内容を見出した。すなわち、水性の懸圧接着剤系は、重合性フィルム形成性の接着剤と共に、重合性の、アクリレートの不融性でかつ固着に粘着性のある中空微小球の組合せを利用できる。この水性ブレンドは、裏打ちに適用すると、所望の位置決め能力、適用の容易さを示しそして上記に論議した位置決め能力のある接着剤と典型的に関連があり、そして加えて高せん断強さ、高剥離接着力および通常のフィルム形成懸圧接着剤に通常関連した他の性能特性を示す。加えて、本発明者等は、この系が大抵の受容体からきれいな除去に備えていることを見出した。

発明の要約

本発明によれば位置決め能力のある水性の接着剤組成物およびその該組成物を含有する製品を提供するものであり、組成物は、以下の(a)および(b)のブレンド又は混合物を含んでなる：

(a) 中空の、重合性の、不融性の、固着に粘着性のエラストマーの微小球の水性懸濁液；および

(b) 少なくとも1種の長鎖のアルキルアクリレートを含んでなる水性フィルム形成性懸圧接着剤ラテックス。好ましくは、ラテックスに対する微小球の重量割合は、

固体基準で、約12:1から約39:1である。

モノマーの水性懸濁重合を含んでなる簡単な1工程プロセスによって調製されるが、前記エマルションは重合中実質的に安定である。双方の方法は、モノマー液滴の水性懸濁をもたらし、これは、重合により微小球になり、その大部分は上述の如く少なくとも1個の内部空間を含有する。

中空微小球の水性懸濁液と配合させるために用いられる水性懸圧接着剤ラテックスは、少なくとも1種の長鎖アルキルアクリレートから成り、すなわち4〜12個の炭素原子を含有し、好ましくは極性モノマーである。

フィルム形成性懸圧接着剤は、中空微小球の内部空間量よりも低いレベルで用いられるべきである。好ましくは、接着剤混合物は、フィルム形成性接着剤に対する微小球の割合を39:1から12:1を含有する。これよりも著しく高いフィルム形成性接着剤のレベルは、接着剤コート製品を製造し、この製品は位置決め能力に対し有害な、フィルム形成性懸圧接着剤の特徴を保持する。

水性組成物は、例えばナイフ又は切り目のついたバー・コーティング手法により、物品、例えば紙、及びビニルおよびポリエステルフィルムに好都合に適用される。

添加剤は特定の目的、例えば水性系のコーティング又はその性能特性を修飾するために混合物中に含有され得る。

特に本発明の水性系が高速度の割合でコーティングとして適用される場合、消泡剤が添加できる。このような物質の1つの例は、

「Ponaster」JMY、通常の消泡剤である（ヘンケルプロセスケミカル社製造）

着色剤が、外観、品質特性等を高めるための添加され得る。幾つかの例は、このような好ましい特徴を加えたコンセントレートを提供する。

接着剤は、位置決め能力がある。すなわち、受容体に適用後、位置的に適合させることができ、しかも高剥離接着力およびせん断強さを示し、更に大抵の受容体からきれいな除去を示す。

印刷のもしくは装飾フィルム、例えばポリ塩化ビニルは、受容体に適用できそして正確に位置決めでき、しかも最終剥離接着力およびせん断力は十分に高められており、移動もしくは変形することなくフィルムをその場所に留めさせる。

発明の詳細な説明

本発明で有用性を有する中空の重合性微小球は、一般に指定された同時出願 276,767（本発明で参考のため導入）に開示されている。このような微小球は、少なくとも1種の極性モノマーの約15重量部までと共に少なくとも1種のアルキルアクリレートもしくはアルキルメタクリレートエステルと少なくとも約85重量部を含んでなり、このような微小球の大部分は1個以上の内部気孔を有する。好ましくは、微小球は、中央のくぼみを少なくとも10%、そして最も好ましくは微小球それ自身の直径30%を有するこのような中空微小球の水性懸濁液は、主として開示される如く乳化プロセスによって調製される。基本的には、それらは、油相中に1種又はそれ以上の極性モノマーの水性溶液の油中水型エマルションを形成し；水性相に第1のエマルションを分散することによって水中油中水型エマルションを形成し；次いで加熱又は照射を適用することによって好ましく重合を開示することを含んでなる。加えて、適度にイオン化した極性モノマーを含有するそのような微小球の水性懸濁液は、成膜の内側に油中水型エマルションを形成し得る少なくとも1種の乳化剤の存在下、少なくとも1種のアルキルアクリレートもしくはメタクリレートエステルモノマーおよび少なくとも1種の非イオン性極性

化学的架橋剤、例えばポリアジリジンは、層間密着：高せん断および凝集強さを増加する。しかし、このような改善は、典型的には粘着性と極大接着性の損失をもたらし得る。

粘度制御物質は、塗布品質およびコントロールを助成するのに添加される。例として、水溶性物質例えば種々のセルロース製品、ポリアクリル酸、およびビニルアルコールである以下に本発明の実施例を非制限的に説明する。全ての部は特に言及しない限り重量部である。

【実施例】

例1

中空微小球を次の手順に従って製造する：

機械的攪拌器、温度計および真空用のインレット・アウトレットラインおよび要素を備えた11の撹拌反応器中に、450gの脱イオン水、141gのイソオクチルアクリレート、9.0gのアクリル酸および0.5gの過酸化ベンゾイルを投入した。真空にして反応器の大気を排気にし、次いで反応器をアルゴンでバージした。攪拌を400RPMに設定しそして開始剤が溶解したら、1.5gのアンモニウムラウリルスルフェート（Standapolt、ヘンケル社製）を添加した。反応器の温度は80℃に上昇しそして22時間保持した。アルゴンバージは重合中保持した。次いで懸濁液を室温に冷却した。次いで反応器を空にし、懸濁液を濾過した。光学顕微鏡は、中空微小球の直径が約4〜約80ミクロンであることを示し、大部分の微小球は、その微小球の直径の約30%の中央くぼみを含有している。

この微小球懸濁液は、典型的にはpH 2.0〜4.0を示し、固形含量は約25%を有している。この手順において、平均の球の直径は典型的には40〜80ミクロンである（異なる容積の割合又は混合比は粒径、気孔直径等を変えるであろう）

水性感圧接着剤を次のように調製した：

容量2000mlのスプリッター樹脂フラスコに、可変速度攪拌器、コンデンサー、窒素を導入するためのパージ用管および記録制御器を取りつけた。

404 g	脱イオン水
1.50 g	ナトリウムドデシルベンゼンスルフェート
435 g	イソオクチルアクリレート
80 g	N-第三オクチルアクリルアミド
0.60 g	ナトリウムビカーボネート

固体のN-第三オクチルアクリルアミドを、フラスコに添加する前にイソオクチルアクリレートに溶解した。実験終了まで窒素バージを続けた。フラスコおよびその内容物50℃に加熱し、この温度で0.05gのカリウムパースルフェートおよび0.0125gのナトリウムメタビスルファイトの最初の投入量を添加した。反応混合物を50℃で約24時間保持し、重合を完了した。得られたラテックスは、凝集は示さず固形含有量は54%であった。

上記の如く調製した接着剤は25%固形の 95.88部の水性微小球懸濁液；54%の固形を含有する 3.6部の水性感圧接着剤；流動学的制御剤としての0.52部の ASE-6（ロームアンドハース社から商業的に入手可能）を一緒にして適当な容器に入れた。

次いで組成物をポリ塩化ビニルフィルム上にナイフを用いてコートし、次いで 200°F で1分間乾燥し、1㎡当たり19gの乾量コーティングを得た。

例 2

例1の接着剤を繰り返した。但し、98.77部の微小球懸濁液および1.23部の感圧接着剤ラテックスを用いた。これを例1に於ける如くポリ塩化ビニルに適用した。

固形含有量は40%であった。

例1の水性微小球懸濁液97.68部と、フィルム形成性感圧接着剤1.57と水酸化アンモニウムでpH 7.5~8.5に調整されたASE-60の0.5部と共に混合することによって接着剤ブレンドを、作成した。

ブレンドを例1に於ける如く、1㎡当たり19g塗布量でポリ塩化ビニルにコートした。

例 5

フィルム形成性感圧接着剤を例4に従って作成した。但し、モノマー混合物は、320gのエチルアクリル、64gのブチルアクリレート、および16gのアクリレート酸から成っていた。次いでブレンドを、例1の 94.46部の水性微小球懸濁液を、再び40%の固形を有する4.77部のフィルム形成性感圧接着剤、0.52部のASE-60に添加することにより、水酸化アンモニウムでpH 7.5~8.5に調整することにより更に0.26部のC-E2カラーコンセントレートを添加することによって製造した。

再びブレンドを例1に於ける如く1㎡当たり19gの塗布量でポリ塩化ビニルに適用した。

例を接着に付したのが最初とエージング後として動的せん断をも測定した。これらの結果は表1に示す。

接着試験に対して、25.4mmストリップのサンプルを、2.27kgのロールを有する3本のパスを用いてテストパネルに適用した。接着力を、接着したサンプルを180度で2.57mm/分で剥離することによってテストした。報告された値は、5秒にわたって読んだ平均値であった。

試料を指定された時間の同室温（27℃）で老化させた。

動的せん断試験に対し、0.076mmのポリエステルテープを試験されるべき28.5mm幅の試料に接着した。試料を試験パネル、典型的に

例 3

接着剤ブレンドを、適当な容器中、例1の96.23部の水性微小球懸濁液；2.99部のゲルバ（Gelva）2397、モンサント社から入手可能な水性懸濁液接着剤、65%固形含有；0.52部のASE-6を混合し；引き続き水酸化アンモニウムを用いてpHを7.5~8.5に上昇させ；次いで不透明を得るため0.26部のC-E2カラーコンセントレート（チバガイギー社製）を添加することにより調製した。

例1における如く、組成物を1㎡当たり19gの乾量コーティング量でポリ塩化ビニルフィルム上にコートした。

例 4

フィルム形成性感圧接着剤を次の如く調製した：

容量2000mlのスプリッター樹脂フラスコに、可変速度攪拌器、コンデンサー、窒素導入用パージ管、および記録制御器を備えた。次の物質をフラスコに添加し、この間フラスコを窒素でバージした：

600 g	脱イオン水
4.80 g	ナトリウムドデシルベンゼンスルホネート
4.80 g	ノニルフェノール-10.5モル エチレンオキシド付加物
16.0 g	アクリル酸
160.0 g	エチルアクリレート
160.0 g	イソオクチルアクリレート
64.0 g	ブチルアクリレート

実験終了まで窒素バージを続けた。フラスコおよびその内容物を300rpmで攪拌し、82℃に加熱した。この温度で0.30gのカリウムパースルフェートおよび0.08gのナトリウムメタビスルファイトの初期の投入量を加えた。発熱反応が生じ、温度が約75℃に増加した。その後、反応混合物を冷却せしめた。得られたラテックスは凝集せず、

は塗布した金属パネルに粘着させそして25.7mm×25.7mmの接触面積が保持できるように切り取った。試料をインストロン試験機を用い、5mm/分の速度で引張った。試験パネルから試料を除去するために要求される最大の力を記録する。

表 1

	初期接着力 ニュートン/ デシメートル 幅	24時間後の接着力 ニュートン/ デシメートル 幅	動的せん断 ニュートン/ デシメートル 幅
例 1	20.84	27.50	1176.92
例 2	22.07	20.97	1117.99
例 3	23.67	26.45	1228.06
例 4	20.67	26.09	993.18
例 5	27.34	27.32	1037.52

試料の視覚的観察は、受容体試料標本への接着剤の移行の徴候は示されなかった。

最良の実施に対し、ブレンドは微小球の単一層を得るために要求される最小の塗布厚で適用されるべきである。高コーティング層は、基本的にはむだであり、一方コーティング厚の減少は不完全な表面被覆面積をもたらす、従って減少した剥離接着力とせん断値をもたらす。

好ましい塗布厚は、平均の微小球の対応する直径によって表わされる。例えば、前記の手順によって塗られる微小球は典型的には平均40~60ミクロンの直径を有し従って、好ましい塗布厚は同じ範囲内のものとなるであろう。

補正書の翻訳文提出書
(特許法第184条の7第1項)

平成5年8月2日

特許庁長官 麻生 誠 殿

1 特許出願の表示

PCT/US92/00613

2 発明の名称

高せん断強さを有する位置決め能力のある接着剤系

3 特許出願人

住 所 アメリカ合衆国、ミネソタ 55133-3427,
セント ポール、ポスト オフィス ボックス
33427、スリーエム センター

名 称 ミネソタ マイニング アンド
マニュファクチャリング カンパニー

4 代理人

住 所 東京都港区虎ノ門一丁目8番10号静光虎ノ門ビル
105 電話 (3504)0721

氏 名 弁護士 (7709) 宇 井 正 一
(外4名)

5 補正書の提出年月日

1992年9月2日(受理日)

6 添付書類の目録

(1) 補正書の翻訳文



1通

(a) 中空の、重合性の、不融性の、溶剤不溶性の、アクリレート、固有に粘着性のエラストマーの微小球の水性懸濁液；および
(b) 少なくとも1種の約4ないし約12個の炭素原子を有する長鎖のアルキルアクリレートを含んでなる水性フィルム形成性懸液接着剤ラテックス。

6. 前記基板が、ポリ塩化ビニルフィルムである、請求の範囲第1項記載の製品。

7. 前記微小球が、少なくとも約85重量部の少なくとも1種のアルキルアクリレートもしくはメタクリレートエステルおよび約15重量部までの少なくとも1種の極性モノマーを含んでなる、請求の範囲第5項記載の製品。

8. 固体を基準にして、前記ラテックスに対する前記微小球の重量割合が、約12:1から約39:1である、請求の範囲第5項記載の製品。

9. 前記ラテックスが更に少なくとも1種の極性モノマーを含んでなる、請求の範囲第5項記載の組成物。

特表平6-505763 (5)

請求の範囲

(1992年9月2日付、国際事務局によって受理された。元の請求の範囲第1項及び第5項が補正された。残る請求の範囲はそのままである(2ページ)。)

1. 高せん断強さおよび剥離接着力を保持しつつ、基板に層として適用した場合、位置決め能力を示すことのできる水性接着剤組成物であって、以下の(a)および(b)の水性ブレンドを含んでなる前記組成物：

(a) 中空の、重合性の、不融性の、溶剤不溶性の、アクリレート、固有に粘着性のエラストマーの微小球の水性懸濁液；および

(b) 少なくとも1種の約4ないし約12個の炭素原子を有する長鎖のアルキルアクリレートを含んでなる水性フィルム形成性懸液接着剤ラテックス。

2. 前記微小球が、少なくとも約85重量部の少なくとも1種のアルキルアクリレートもしくはメタクリレートエステルおよび約15重量部までの少なくとも1種の極性モノマーを含んでなる、請求の範囲第1項記載の組成物。

3. 固体を基準にして、前記ラテックスに対する前記微小球の重量割合が、約12:1から約39:1である、請求の範囲第1項記載の組成物。

4. 前記ラテックスが更に少なくとも1種の極性モノマーを含んでなる、請求の範囲第1項記載の組成物。

5. 製品の少なくとも一方の面の少なくとも一部に適用されている基板；次の(a)および(b)を含んでなる位置決め能力のある接着剤のコーティングを含んでなる製品：

補正書の翻訳文提出書
(特許法第184条の8)

平成5年9月2日

特許庁長官 麻生 誠 殿

1 特許出願の表示

PCT/US92/00613

2 発明の名称

高せん断強さを有する位置決め能力のある接着剤系

3 特許出願人

住 所 アメリカ合衆国、ミネソタ 55133-3427,
セント ポール、ポスト オフィス ボックス
33427、スリーエム センター

名 称 ミネソタ マイニング アンド
マニュファクチャリング カンパニー

4 代理人

住 所 東京都港区虎ノ門一丁目8番10号静光虎ノ門ビル
105 電話 (3504)0721

氏 名 弁護士 (7709) 宇 井 正 一
(外4名)

5 補正書の提出年月日

1992年8月27日

6 添付書類の目録

補正書の翻訳文



1通

印刷のもしくは装飾フィルム、例えばポリ塩化ビニルは、受容体に適用できそして正確に位置決めでき、しかも最終剝離接着力およびせん断力は十分に高められており、移動もしくは変形することなくフィルムをその場所に留めさせる。

本発明で有用性を有する中空の重合性微小球は、一般に指定された同時出願 278,767 (米国特許第 5,045,569号) (本発明で参考のため導入) に開示されている。このような微小球は、少なくとも 1 個の活性モノマーの約 15 重量部までと共に少なくとも 1 種のアルキルアクリレートもしくはアルキルメタクリレートエステルの少なくとも約 85 重量部を含んでなり、このような微小球の大部分は、1 種以上の内部気孔を有する。好ましくは、微小球は、中央のくぼみを少なくとも 10%、そして最も好ましくは数微小球それ自身の直径 30% を有するこのような中空微小球の水性懸濁液は、主題出題で開示される如く乳化プロセスによって調製される。基本的には、それらは、油相中に 1 種又はそれ以上の活性モノマーの水性溶液の油中水型エマルジョンを形成し；水性相に第 1 のエマルジョンを分散することによって水中油中水型エマルジョンを形成し；次いで加熱又は紫外線を適用することによって好ましく重合を開示することを含んでなる。加えて、適度にイオン化した活性モノマーを含有するような微小球の水性懸濁液は、少なくとも 1 種のアルキルの水性懸濁重合を含んでなる簡単な 1 工程プロセスによって調製される。

(b) 少なくとも１種長鎖を含んでなる水性フィルム形成性感圧接着剤ラテックス。

PCT/US 92/05613

I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER According to the International Patent Classification (IPC) to which the invention relates, indicate any Int. Cl. 5 Classifications Int. Cl. 5 Classifications Int. Cl. 5 Classifications		International Application No. PCT/US 92/00613	
II. FIELD OF THE INVENTION (Indicate the field of the invention)			
Classification Scheme Int. Cl. 5		Classification Scheme Int. Cl. 5	
III. SUMMARY OF THE INVENTION (Indicate the field of the invention)			
IV. BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS (Indicate the field of the invention)			
V. DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION (Indicate the field of the invention)			
VI. CLAIMS (Indicate the field of the invention)			
VII. REFERENCE TO OTHER DOCUMENTS (Indicate the field of the invention)			
VIII. ABSTRACT (Indicate the field of the invention)			
IX. OTHER INFORMATION (Indicate the field of the invention)			
X. SIGNATURE OF THE INVENTOR (Indicate the field of the invention)			
XI. SIGNATURE OF THE ATTORNEY (Indicate the field of the invention)			
XII. DATE OF FILING (Indicate the field of the invention)			
XIII. DATE OF PUBLICATION (Indicate the field of the invention)			
XIV. DATE OF RECEIPT (Indicate the field of the invention)			
XV. DATE OF DEPOSIT (Indicate the field of the invention)			
XVI. DATE OF EXAMINATION (Indicate the field of the invention)			
XVII. DATE OF GRANT (Indicate the field of the invention)			
XVIII. DATE OF REFUSAL (Indicate the field of the invention)			
XIX. DATE OF WITHDRAWAL (Indicate the field of the invention)			
XX. DATE OF CANCELLATION (Indicate the field of the invention)			
XXI. DATE OF RESTORATION (Indicate the field of the invention)			
XXII. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
XXIII. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
XXIV. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
XXV. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
XXVI. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
XXVII. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
XXVIII. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
XXIX. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
XXX. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
XXXI. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
XXXII. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
XXXIII. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
XXXIV. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
XXXV. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
XXXVI. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
XXXVII. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
XXXVIII. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
XXXIX. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
XL. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
XLI. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
XLII. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
XLIII. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
XLIV. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
XLV. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
XLVI. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
XLVII. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
XLVIII. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
XLIX. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
L. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LI. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LII. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LIII. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LIV. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LV. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LVI. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LVII. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LVIII. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LIX. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LX. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXI. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXII. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXIII. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXIV. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXV. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXVI. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXVII. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXVIII. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXIX. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXX. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXXI. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXXII. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXXIII. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXXIV. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXXV. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXXVI. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXXVII. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXXVIII. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXXIX. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXXX. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXXXI. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXXXII. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXXXIII. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXXXIV. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXXXV. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXXXVI. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXXXVII. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXXXVIII. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXXXIX. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXXXX. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXXXXI. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXXXXII. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXXXXIII. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXXXXIV. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention)			
LXXXXV. DATE OF REINSTATEMENT (Indicate the field of the invention			

國際調查報告

US 9200611
SA 57769

This cover lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The members are as contained in the European Patent Office EPO file no. The European Patent Office is in no way liable for their procedure which are merely given for the purpose of information. 15/06/92

Person, document cited in summary report	Publication date	Person family identifier	Publication date
US-A-4968562	06-11-90	AU-A- EP-A- US-A-	6828391 0444354 4888567 29-08-91 04-09-91 29-01-91
EP-A-0419020	27-03-91	US-A- AU-A- CA-A- JP-A-	4994322 8985650 8821950 3111473 19-02-91 21-02-91 10-03-91 13-05-91

For more details about this award, see *Official Journal of the National Police Officer*, No. 11/87.

フロントページの続き

(72)発明者 クランダー、マイケル ディー。
アメリカ合衆国、ミネソタ 55133-3427,
セント ポール、ポスト オフィス ボッ
クス 33427

(72)発明者 デルガド、ジョークイン
アメリカ合衆国、ミネソタ 55133-3427,
セント ポール、ポスト オフィス ボッ
クス 33427

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表平6-507498

第6部門第1区分

(43) 公表日 平成6年(1994)8月25日

(51) Int. Cl. ⁸	識別記号	庁内整理番号	F I
G 0 1 N 33/543		8310-2 J	
33/48	E	7055-2 J	
35/02	A	7370-2 J	

審査請求 有 予備審査請求 有 (全 34 頁)

(21) 出願番号 特願平5-501089
 (86) (22) 出願日 平成4年(1992)6月12日
 (85) 翻訳文提出日 平成5年(1993)12月13日
 (86) 国際出願番号 PCT/US92/05103
 (87) 国際公開番号 WO92/22802
 (87) 国際公開日 平成4年(1992)12月23日
 (31) 優先権主張番号 714, 810
 (32) 優先日 1991年6月13日
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (81) 指定国 EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IT, LU, MC, NL, SE), AU, CA, JP, KR, US

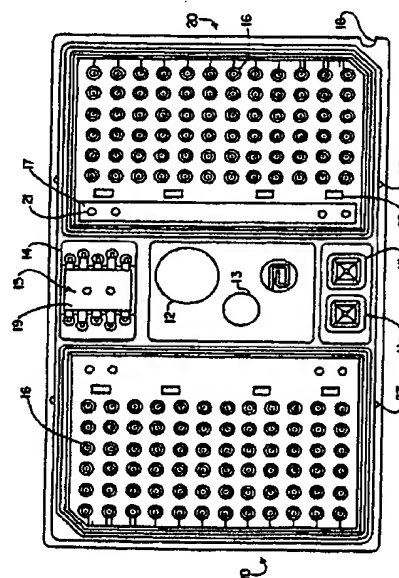
(71) 出願人 アボット・ラボラトリーズ
 アメリカ合衆国、イリノイ・60064-3500、
 アボット・パーク、ワン・アボット・パーク・ロード、チャド・0377/エイ・ピー・6・デュー2
 (72) 発明者 チャウ、ハーバート・エス
 アメリカ合衆国、イリノイ・60074、パラ
 テイン、ボールドウィン・ウェイ・2252・エイ
 (74) 代理人 弁理士 川口 義雄 (外2名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 複数反応ウェルカートリッジ

(57) 【要約】

種々の試薬がその上に配置された複数の反応ウェル(16)と、少なくとも1つの試料ウェル(11a, 11b)と、試料を結合するための磁気分離可能な粒子を含むウェル(12)と、発蛍光団を含むウェル(13)と、プローブを洗浄するための洗浄域(15)とを有する、自動分析装置のための反応カートリッジ(10)。



請求の範囲

1. 分析装置においてアッセイを実施するための反応カートリッジであって、

各々がアッセイに使用される単位用量の抗血清試薬を含む複数の反応ウェルを備えたトレイと；

前記複数の反応ウェルに対処するのに十分な試料を受容するように構成された少なくとも1つの試料ウェルと；

試薬、抗体を含む常磁性ビーズ、及び蛍光物質を含む少なくとも1つのウェルと；

分注プローブから廃液を受容するように構成された少なくとも1つの洗浄プローブウェルとを含む反応カートリッジ。

2. 前記少なくとも1つの試料ウェルが、複数の単位用量の分析すべき試料を与えるのに十分であり、従ってその内に単位用量の抗血清試薬を含む複数の反応ウェルに対処するのに十分な試料を受容するように構成されている請求項1に記載の反応カートリッジ。

3. 前記試薬、抗体を含む常磁性ビーズ、及び蛍光物質を含む少なくとも1つのウェルが、これらの物質を、単位用量の試料及び反応ウェルの単位用量の試薬に対処するのに

面が前記流体を保持するように構成されており、前記ウェルの壁及び底部の内側表面がガスプラズマ処理されており且つ脂肪非含有材料で被覆されているトレイであって；

各々がアッセイに使用される単位用量の抗血清試薬を含む複数の反応ウェルを含む前記トレイと；

複数の単位用量の反応ウェル試薬に対処するのに十分な単位用量の試料を受容するように構成されている少なくとも1つの試料ウェルと；

単位用量の試薬、抗体を含む常磁性粒子、及び蛍光物質を含む少なくとも1つのウェルと；

分注プローブから廃液を受容するように構成された少なくとも1つの洗浄プローブウェルとを含む反応カートリッジ。

9. 前記トレイが、ウェル底部によって規定される表面積より大きい開口表面積を有するよう規定された反応ウェルを有する請求項8に記載の反応カートリッジ。

10. 前記反応ウェルが、底部対上部の直径が約1:10〜約1:5の幾何学的寸法関係を有し且つ高さが上部直径とおおよそ同じ寸法を有しており、前記反応ウェルの底部及び上部の両方が一定直径を有する請求項9に記載の反応

十分な単位用量を含む請求項1に記載の反応カートリッジ。

4. 前記少なくとも1つの洗浄プローブウェルが、廃液及び洗浄廃棄物を収容するためのブロック材料に加えて備えられている請求項1に記載の反応カートリッジ。

5. 構成材料が該カートリッジの反応ウェルに光を透過させるものであり、該反応カートリッジが使い捨て可能である請求項1に記載の反応カートリッジ。

6. 前記反応ウェルに光を透過させる材料で被覆されており、該反応カートリッジを再使用し得る請求項1に記載の反応カートリッジ。

7. HLA、PRAまたは臓器アッセイを実施するために使用される請求項1に記載の反応カートリッジ。

8. 分析装置においてアッセイを実施するための反応カートリッジであって、

上面と下面とを有しており、前記上面が、生物学的アッセイを実施するために生物学的流体を受容及び保持するように構成及び処理されている、間隔を置いて並べられた複数のウェルを規定しており、前記ウェルが、内側表面を有する側壁及び底壁を有しており、前記ウェルの前記内側表

面が前記流体を保持するように構成されており、前記ウェルの壁及び底部の内側表面がガスプラズマ処理されており且つ脂肪非含有材料で被覆されているトレイであって；

11. HLA、PRAまたは臓器アッセイを実施するために使用される請求項8に記載の反応カートリッジ。

明 細 書
複数反応ウェルカートリッジ

発明の背景

本発明は広義には、例えば生物検体のような検体を試験するアッセイを実施するための自動化装置及び方法に係わる。本発明は特に、ドナー由来の組織または血液のレシビエントとの適合性を検出する方法を実施するアッセイのための自動化装置及び方法に係わる。

未知の検体の光学的または電気化学的作用を判定または測定する現在の試験方法は、多数の医療試験作業において広範囲に使用されている。このような試験においては、試験検体を試薬及び他の物質と反応させる。かかる公知の方法には多種多様なアッセイステップが含まれるが、典型的には、アッセイ作業の間の試料または標識の光学的変化の検出及び測定に依存する。例えば、多数の公知の方法で単一または複数の波長の蛍光が使用されている。上記及び他のイムノアッセイ方法は、蛍光偏光イムノアッセイ (Fluorescence Polarization Immunoassay, FPIA)、固相凝集、染色細胞形態学、酵素イムノアッセイ (EIA)、化学ルミネッセ

ンスに加える。次いで、死滅細胞 (溶解細胞) 対生体細胞の比を計算することにより反応を評価する。計算は、顕微鏡を使用し、比を推算することにより行われる。この比を、公知の評価尺度を使用することにより1~8の“評点”に変換する。

上記HLA型判定法及び他のアッセイ方法においては、常磁性粒子を抗体で被覆し、次いでその常磁性粒子を分析すべき試料と混合する。常磁性粒子上の抗体は試料中の特定の細胞に結合する。かかる特定の細胞成分は、試験中の集団内の他の細胞から磁気分離法を使用して分離することができる。或いは、ナイロンウールカラムを使用することにより細胞を分離することもできる。細胞を抗体と反応させた後、試料混合液に、粒子標識、試薬標識、インキュベーション及び洗浄といった一連の作業を実施する。試料中の細胞は、HLAアッセイに関して上述したような1種以上の化学マーカーを用いて染色することもできる。通常は、試料は熟練者によって手作業で分析される。この手作業分析には通常、抗体と反応した細胞のおおよその割合を決定する視察分析が含まれる。

上記及び他の入手可能なアッセイ法の大きな欠点は、方

及び分光光度アッセイとして公知である。

他の現在使用されているアッセイ方法は、得られた試料を透過光または反射光に露光することにより行われる。かかるアッセイ作業には、着色濃度を検出すること、複数の着色波長の比を検出すること、試料内での偏光を検出すること、所定の波長における特定の細胞の大きさ及び量、一般細胞形態または結果の他の光学特性を決定することが含まれる。次いで、上記作業から得られたデータは、問題の成分 (一種またはそれ以上) の濃度または比を得るために公知の方法において処理される。しかしながら、これらの方法は完全には受け入れられておらず、通常はチェックまたは検証として手作業による分析も行われる。

特に重要な1つのアッセイ方法は、ヒト白血球抗原 (HLA) 型判定として公知の作業である。この作業は、ドナー由来の組織、臓器または血液をレシビエントに適合させることに使用される。このHLA型判定作業においては、まずヒト細胞を含む試料中のリンパ球を単離し、次いで種々の抗血清と反応させる。更に、細胞-血清混合液を補助試薬と一緒にインキュベートする。そのうちの1種は死滅細胞を染色する1種以上の色素 (stains) を混合液

法のほとんどのステップを手作業で行う必要があることである。例えば、かかる方法のほとんどで試料を手作業で調製する必要がある。更に、分注、混合、洗浄、インキュベーション、データ収集、評価、及び記録といったステップも手作業で行われる。即ち、ほとんどの入手可能なアッセイ法において作業員には多大な時間が要求される。

当業者には明かなように、上記ステップを手作業で行うことは、誤差が生じる機会が多くなることから望ましくない。これは特に、何回も繰り返される作業に当てはまる。誤差の可能性は、かかる方法の多くが極めて少量の、即ち通常は1 μ l以下の量をピペット添加する必要があることから更に増大される。また、顕微鏡と鉛筆を使用して多数の反応を評価することも、分析誤差の可能性を増大する。

更なる欠点は、試験を実施する個人に容認される主観性である。この主観性は、アッセイごとのみならず、同じアッセイにおいて何回も繰り返される作業においても分析は非一貫的となり得る。

幾つかの入手可能なHLAアッセイ装置においては個々のステップが自動化されているが、かかる装置のほとんど

のステップは依然として手作業で行われている。例えば米国特許第4,318,866号(Kawahara et al.)は、位相差顕微鏡と、電気信号ピックアップ装置によって検出される信号を生成するための光学像を使用するHLA型判定装置を開示している。像は、2値化され、反応または非反応リンパ球に対応する所定のテンプレートパターンと比較される。結果の評価は自動化されているが、試料の調製、インキュベーション及び洗浄は作業員によって手作業で行われなければならない。

更に上記装置は、HLA型判定試験の評価をするための専用エレクトロニクハードウェアを使用する。以下に詳述するように、試料中の塊または團といった異物、試料容器の損傷、または例外的に大きい細胞は、信頼性のないまたは誤った結果をもたらす得る。実際、このような起こり得る変化に対して設計変更しなければ、人ならば読取り可能な多くの試料が該装置によっては読取り不可能である。試料を調製する作業員が使用する方法の変更は、装置の大幅な設計変更なくしては信頼性のない結果となり得る。端的に言えば、特に意図されたもの以外のアッセイを評価するための装置の拡張は困難である上にコストもかかり、各

アッセイに対してハードウェアの大幅な設計変更が必要となる。

米国特許第4,318,866号に記載のもののような入手可能な自動化装置の別の大きな欠点は、それらが特定のアッセイ法(例えばHLA型判定)に対して設計されていることである。ハードウェアまたはソフトウェアの大幅な設計変更なくしては、装置が当初は意図されていなかったアッセイを実施することは不可能である。このような大幅な設計変更は非実用的であり、従って入手可能な装置の使用は単一タイプのアッセイに制限される。

試料を反応ウェル内に正確に分注することも高精度のアッセイ結果を得るには重要である。HLA型判定においては、分注は通常は手作業で行われる。所定の手作業による分注作業には、 $0.5\mu\text{l}$ ~ $1.0\mu\text{l}$ の試料を、 $2.5\mu\text{l}$ の缸油で覆われた $0.5\mu\text{l}$ の試薬中に分注することが含まれる(缸油は試薬の蒸発を防ぐために使用される)。或いは、作業員の誤差の影響を低減するためにより多い量が必要である。この分注ステップを行うために作業員は有意な量の時間を費やし、この時間は、試薬の種類が増加するほど長くなる。また、試薬の多くはかなり高価であるため、

量を増加するとコストが増える。更に、作業員は通常ピペットの先端を油の底面下で且つ試薬自体の中に挿入する。1つの反応部位から次の反応部位への持続しを防ぐため、作業員は通常ブロープの先端を手作業で拭き取り、これにも作業員は時間を要すると共に、誤った結果を与える可能性も増大する。

自動化アッセイ装置及び方法がHLAアッセイ法に使用されるならば、それらは、液体レベルを極めて正確に監視し且つ液体分注機構(例えばピペット)を正確に制御し得る必要がある。正確な分注機構は、上述のごとく極めて少量の液体($1\mu\text{l}$ 以下)を通常は別の液体を含む容器内に分注する必要があるが故に、HLA型判定においては特に重要である。幾つかの自動化液体分注装置が現在入手可能であるが、それらは、HLA型判定のようなアッセイにおいて試料を分注するのに完全には適していない。使用可能な自動化液体分注装置は一般に、容器内の液体レベルを検出し、次いで、液体表面に関する分注ブロープの位置を決定することにより動作する。次いでこの情報が、ブロープ先端が試料容器内の液体中に入った時点を決断するために使用される。液体表面が検出され、ブロープが液体中であ

ると判断されると、液体が容器中に分注されたりまたは容器から吸引され得る。液体分注装置の精度は一部には液体レベル検出の精度に依存する。

HLA型判定アッセイにおいて入手可能な液体レベル検出及び液体分注装置の使用可能性の制限は、ピペット船加ブロープが試料容器内を液体に向かって動くときに液体表面を検出するキャパシタンス法を使用すること起因する。試薬を覆っている油の誘電率は低いので、このようなキャパシタンスまたはコンダクタンス装置においては $1\mu\text{l}$ より少ない量の液体を分注することは複雑となる。油の誘電率は空気の誘電率の2倍にしかすぎず、このことでほとんどのキャパシタンス検出法は、油表面を検出することにおいては信頼性のないものとなっている。更に油の低誘電率の高いために、入手可能なコンダクタンス法は正確には使用され得ない。

入手可能な容量性タイプの分注装置は、試料小滴が分注ブロープ上に形成された時点または試料小滴がブロープ先端から離脱または解放された時点を決断する手段を持たない。これらの事象の一方または両方の発生を検出し得ることは、分注装置の精度及び信頼性を向上するために使用さ

れ得る重要な情報である。

従って、極めて少量の液体（1 μ l以下）を検出し得ると共に低誘電率を有する液体のレベルをも検出し得る、液体レベル検出及び液体分注装置を得ることが望まれる。

有意な改善が必要である別のアッセイ試験分野は、反応をカウントするために使用される検出器の分野である。ある種のH L A読取り装置においては既に光電子増倍管が使用されているが、それらは欠点がないわけではなく、市場で容易には受け入れられていない。かかる読取り装置は、各波長において反応部位からの全光出力を測定するための蛍光デンシトメータとして光電子増倍管を使用する。これは理想的な試料には容認し得るが、塊、塵もしくは他の干渉性物質のごとき汚染物質または掻き傷のごとき他の異常が反応部位にある場合には重要な誤差を生み出し得る。この方法は、反応部位にある物体の特性、例えば粒子の形状または大きさを決定し得ないことから誤りを生じる。従って、検出装置の視野内で特性を区別する優れた能力を有する装置が必要である。所望の選択性を与えるためにより高い倍率及び選択マスク法が光電子増倍管に対して開発され得るが、そのような装置のコスト、信頼性及び処理能力が

らそれは非実用的となろう。更に、そのような装置は作業員が見慣れた像を生成することではなく、従って、装置が生成した結果を確認するために熟練者が像を評価することができない。

従って、上記事項を鑑み、本発明の第1の目的は、血清、結晶または細胞成分、及び他の非生物試料を含む試験検体の定性的、定量的または形態的分析を自動処理するための装置及び方法を提供することである。

本発明の別の目的は、自動細胞分離、自動試料処理及び自動結果読取りを含む、H L A型判定を実施するための自動化装置を提供することである。

本発明の更に別の目的は、分析すべき検体がある上に置かれ、次いで自動化装置によって分析される、使い捨てまたは再使用可能なカートリッジにおいてアッセイを実施するための装置及び方法を提供することである。

本発明の更に別の目的は、極めて少量の液体分注を制御し、比較的低い誘電率を有する液体でさえその液体レベルを正確に決定し、且つ小滴形成及び離脱を判定し得る、液体分注及び液体レベル検出系を備えた分析装置を提供することである。

本発明の更に別の目的は、誘電率が異なる液体間の界面を検出し得る検出系を提供することである。

本発明の更に別の目的は、データの自動寸法測定及びカウントのための、強力で、コスト効率がよく、効果的な検出処理を有する分析装置を提供することである。

本発明の更に別の目的は、種々のタイプのアッセイを実施するために現場で改良可能な装置を提供することである。

発明の要約

上記目的及び他の目的を達成するため、本発明は、細胞分離、試料処理、分注及びアッセイ結果評価を含むアッセイ作業に必要なステップを自動化する装置を提供する。

該装置は、種々の試薬がある上に配置された複数の反応ウェルを有する反応カートリッジにおいてアッセイを実施する。反応カートリッジの少なくとも1つのウェルは、試料を受容するために備えられている。またカートリッジは、試料に結合するように処理されており且つそれに結合しなかった細胞から分離し得る粒子（例えば常磁性粒子）を含むためのウェルを含んでおりと共に、試料中の特定の種類の細胞に結合するように処理されている少なくとも1種の蛍光物質を含むウェルも備えられている。カートリッジは、プローブを洗浄するように構成された洗浄域と、液体及び廃液を保持するための溜めとを含む。

本発明の装置は、各反応ウェルにおいて特定の反応が起こったかを示す像を検出するための光学または像形成装置を含む。本発明装置は更に、液体レベルを検出するための機構を含む、液体を分注及び吸引するための機構をも含む。該装置は更に、像形成装置から受け取った情報を分析し、

且つその情報を処理して実施中のアッセイ及びそれらの結果の視覚表示を生成する論理をも含む。該装置の動作及び画像処理を支援するためにマイクロプロセッサが備えられる。

本発明の別の態様においては、本発明の装置及び方法に使用し得るカートリッジのための特に新規の構成が与えられる。カートリッジは、種々の試薬がその中に配置された複数の反応ウェルを含む。カートリッジは更に、単位量の分離用粒子と、単位量の分析すべき試料を受容するように構成されたウェルと、試料の分析に使用し得る単位量の染料（例えば蛍光染料）を格納するためのウェルとを含み得る。またカートリッジは、ブロープ洗浄域として使用し得るウェルを含むのが好ましい。

本発明の別の態様においては、複数の液体レベルを検出するため及び液体を分注するために特に他に類のない構成が与えられる。液体レベル検出及び液体分注機構は、液体がそこを通して分注されるブロープを含む。該装置は、ブロープによって小滴が形成された時点及びその小滴がブロープから離脱した時点を検出し得る手段を含む。発振器が無線周波数信号をブロープの先端に与える。分注ブロープ及び反応ウェルの下方には、増幅及び分析回路に接続され

た伝導性エレメントが設置されている。伝導性エレメントは、ブロープから無線周波数信号を受取り、該信号を、ブロープがウェル内の液体表面に到達した時点、小滴が形成された時点及びブロープから離脱した時点、並びにブロープが液体中に挿入された時点を決断すべく処理する。

本発明の装置は、移植診断のためにHLA及びPRA (Panel Creative Antibody) 型判定を実施するように設計されたランダムアクセス自動化装置系である。該装置は、試料ウェル（1つまたはそれ以上）と、試薬ウェル（1つまたはそれ以上）と、反応ウェル（1つまたはそれ以上）と、ブロープ洗浄／廃棄ウェル（1つまたはそれ以上）とを単一ユニット内に具備する、使い捨てまたは再使用可能なカートリッジを使用する。構成ウェルの数はアッセイに応じて変化するが、使い捨てカートリッジの外寸は長さ5.5インチ×幅3.3インチ×高さ0.55インチであるのが好ましい。識別のために、人及び機械が読取り可能なラベル（機械の場合はバーコード）を使い捨てカートリッジに貼り付けることができる。

図示したように、該装置を構成する主要なサブシステムは、ピベトロボット、読取りロボット、フルイディック

ス系、リーダー、ロードステーション、アンロードステーション及びインキュベータステーションである。装置機能は、内蔵PCベースコンピュータコントローラによって制御される。人とのインターフェース機能及びデータ管理機能は、外部のPCベースヒューマンインターフェースワークステーション(PC based Human Interface Workstation)によって行われる。

本発明の他の目的、利点及び新規特徴は、一部は以下の説明に記載し、一部は以下の説明から当業者には明らかになり、また本発明を実現することによっても判るであろう。本発明の目的及び利点は、全ての等価物を含む、特に感付の請求の範囲に指摘した組合せによって得ることができる。

図面の簡単な説明

図1は、試薬と分析すべき試料とを保持するための本発明のカートリッジの1つの実施態様である。

図2は、ウェル内の試薬及び小滴を示す、図1に示したカートリッジにある反応ウェルの1つの実施態様である。

図3は、本発明の分析装置の主要構成部品の実施態様のブロック図である。

図4は、図3に示した装置及び方法の実施態様の概略ブロック平面図である。

図5は、図3及び図4に示したピベトロボット及びイメージロボットに使用され得る、グリッパを含む3軸ロボットの1つの実施態様である。

図6は、図5に示した3軸ロボットに使用され得るグリッパの1つの実施態様である。

図7は、本発明の液体レベル感知装置の1つの実施態様のブロック図である。

図8は、本発明の液体レベル感知及び分注機構のブロック図である。

図9は、図7及び図8に示した液体レベル感知及び分注機構に使用される増幅回路の1つの実施態様である。

図10は、第1の分注方法における本発明の液体レベル検出系からの出力信号を示すグラフである。

図11は、図7及び図8に示した液体レベル感知及び分注構成に使用され得る方形波発振器の1つの実施態様である。

図12は、本発明の光学または像形成装置の1つの実施態様の概略図である。

図13は、本発明の像処理構成の1つの実施態様の概略ブロック図である。

図14は、第2の分注方法における本発明の液体レベル検出系からの出力信号を示すグラフである。

図15は、分析装置の主要構成部品を示す、カバーを取り外した本発明の装置の前方斜視図である。

図16は、頂部カバーを取り外した図15の装置の平面図である。

図17は、本発明の光学装置の別の実施態様の側方断面図である。

図18は、図3及び図4に示したピペット及びイメージロボットに使用され得る、グリップを含む3軸ロボットの別の実施態様の斜視図である。

結果、ウェルの縁部位置がフレームの中央に合わせられたことを示す図である。

図27は、ウェルが確実にフレームの中央に置かれるような所定の座標に縁部位置を置くべく移動されたウェルを示す。

図28は、ウェル及びフレームの縁上に重ねられた問題の領域を示す図である。

図29は、問題領域 (region of interest, ROI) における典型的なヒストグラム及びしきい値を示すグラフである。

図30は、ヒストグラム上に設定される理想的なしきい値を示すグラフである。

図31は、2つの細胞の典型的なグレイスケール分布と異なるしきい値を有する2つのセルとを示す図である。

図32は、細胞カウント処理の間に計算された複数のしきい値を示すグラフである。

図33は、強陽性、弱陽性、弱陰性、陽性及び強陽性の反応から得る像A〜Eを示す。

図34の上段のグラフA〜Eは、X軸を画素位置情報とし、Y軸をグレイスケール強度として反応強度を示すグラ

図19は、AB、BC、CD、BC、CB及びDAの断面をソフトウェア決定するために像内のウェルの位置を決定するための図である。

図20は、図19の座標を再び使用して図19の像の断面を示す図である。断面を種々に分析する場合、それは以下の4つのうちのいずれかで表すことができる：

タイプ1—全てが白の画素；

タイプ2—全てが黒の画素；

タイプ3—1回の遷移；

タイプ4—2回の遷移。

図21は、断面が順序1-3-2-3を有する場合の種々のウェルの向きを示す図である。

図22は、順序4-2-2-2におけるウェルの向きを示す図である。

図23は、順序1-1-3-3の構成を示す図である。

図24は、断面の順序が2-2-3-3に対応する像を示す図である。

図25は、ソフトウェアがX軸においてウェルの縁部部分を検出した像を示す図である。

図26は、カートリッジがソフトウェア制御移動された

フであり、図34の下段は、情報の分類及び評価の一方法である強度情報の導関数を示すグラフである。

発明の詳細

システムアーキテクチャ

図面を参照すると、図1には、試験すべき試料の分析に使用される試験カートリッジ10の好ましい実施態様が示されている。図1に示した実施態様においては、カートリッジ10はHLA組織型判定に特に適している。この実施態様及び後述する他の実施態様はHLA分析用に製造されているが、本発明の装置及び方法は他のアッセイ法にも使用され得ることは当業者には明らかであろう。

トレーまたはカートリッジ10は2つの試料ウェル11a及び11bを含む。第2ウェルは、第1試料が満足の行く結果を与えなかった場合に該カートリッジを使用して2回目の試験を行うための試料を保持する、予備試料ウェルとして使用することができる。試料カートリッジ10は更に、常陽性粒子と蛍光染料または発光団とを格納するために使用される反応ウェル12をも含む。蛍光染料は、例えば青色励起・緑色発光波長のものとして行うことができる。ウェル13は補助試薬及び第2の発光団を含む。第2の

発光光源は緑色励起・赤色発光波長のものであるのが好ましい。カートリッジ10は更に、複数の個々に独立した洗浄ベイスン14(図では10個)を有するブローブ洗浄域を含む。洗浄ベイスン14はブローブ洗浄域15の中央内に隣接する。ブローブ洗浄域の中央にはブロック19を設置することができる。ブロック19は、カートリッジ10を輸送する際のしきり及び溢れを防ぐべく過剰な液体を吸収する。ブロック19が腐液を吸収するが故に腐液の腐食が容易になる。なぜならば、かかる腐液は今や固体状態であり、カートリッジ10自体と一緒に廃棄し得るからである。ブロック材料は、ブローブ洗浄域15内で2軸移動吸収体容器(bi-axial transorb reservoir)を規定するよう選択されるのが好ましい。適当なブロック材料は、例えばAmerican Filtrona Co. (Richmond, VA) から入手可能な結合酢酸セルロースである。

図示したように、カートリッジ10は複数の反応ウェル16を含む。図1に示した実施態様においては、カートリッジ10は、その中央域の両側にそれぞれ72個の反応ウェルを含む。即ち、1つの実施態様において全部で144個

1. 1980(この文献は参照により本発明の一部を構成するものとする)に記載の方法によってプラズマ処理されているのが好ましい。図2に示した実施態様においては、各ウェル16は、蒸発を防ぐために2.0 μ lの油(例えば鉱油)で覆われた0.5 μ lの抗血清を含む。当業者には認識されるように、ウェル内の油の量は変えることができる。例えばウェルは2.0~2.5 μ lの油を含み得る。図2には更に、油層24内に分注されている、0.5 μ lの試料を含む小滴25も示されている。

次に図3及び図4を参照すると、本発明の装置の1つの実施態様の主要構成部品がブロック図で示されている。該装置は、ロード域30とスタットロード域32とを含む。スタットロード域32は、ロード域30内のものよりも高い優先順位を有するカートリッジ10を保持するために使用され得る。即ち、スタットロード域32内にロードされたカートリッジ10は最初に処理される。図1に示したカートリッジ10はロード域30またはスタットロード域32のいずれかに手作業で挿入される。カートリッジ10は、カートリッジ10をロボットのグリッパーム内で整列または配向する(詳細は後述する)ために使用されるキー1

またはそれ以上の反応ウェル16が与えられる。反応カートリッジ10は更に、反応及び洗浄液体を吸収するためのブロック材料17を含むこともできる。ブロック17は、ピン21及びリブ23によってカートリッジ10内に保持されている。

こうしてカートリッジ10は、単位用量の必要な試薬、染料及び分離用粒子と単位試料用ウェルとが備えられ得る構成を有利に与える。更にこの構成によってアッセイステップが自動化され得る。

図2を参照すると、カートリッジ10の反応ウェル16の好ましい構成が示されている。各反応ウェルは好ましくは、底部直径0.020インチ、頂部直径0.090インチ及び高さ0.090インチを有する。反応ウェルは、鉱油非含有の高級ポリスチレンでできたカートリッジ上に公知の方法、例えば射出成形によって形成することができる。反応ウェル16の内側表面は、公知のガスプラズマ(またはガスイオン化)処理法によって、例えば文献"Treating Plastic Surfaces With Cold Gas Plasmas", P. Rose et al., Plastics Engng., Oct.

8を含む。ビベトロボット34(詳細は後述する)は、カートリッジ10をロードまたはスタットロード域から保持したりカートリッジ10を微取得域42に移送するグリッパを含む。微取得域42は、トレー識別情報、例えばバーコードまたは光学式文字認識(OCR)タイプの情報の像を得るための手段を含み得る。この情報は、分析すべき特定のカートリッジに所望のアッセイを決定すると共に、任意の試料または患者の識別情報を記録するために使用し得る。該情報は、後の管理タスクのためにデータベース内に格納され得る。イメージロボットは、バーコードが装置によって読み取られ得るように、カートリッジをロード域30またはスタットロード域32から微取得域または専用リードを横切るよう移動させることができる。

該装置は、アッセイ条件が当分野において公知の方法で同定された後に所望のアッセイを完了するのに必要な作業を計画するマイクロコンピュータ及び電子回路44を含む。

また該装置は、情報をマイクロコンピュータのメモリ内に手作業で入力したり、かかる情報を直列通信インターフェースを介してダウンロードしたり、またはかかる情報を着

脱可能な随気装置から読み取ったりするために作業員が使用し得るユーザインターフェース48を含むのが好ましい。

図4に示したように、該装置は更に緩衝液用容器52、電源41、試料ポンプ50を含む、また必要によっては洗浄ポンプ54を含むことができる。

図3及び図4に示した装置または機器は、図15及び図16に作動機構としてより明確に示されている。図15及び図16は、図3及び図4に表わされた主要構成部品を有する装置を示す。前方向視図である図15及び平面図である図16はいずれもカバーが取り外された状態で表されており、従って図3及び図4に単純なブロック図で表わされたものよりも実際の動作関係において構成部品を見ることが出来る。

ビペットロボット34及びイメージロボット40は任意の適当な3軸ロボットとすることができる。図5及び図18は、現在使用されている2種類の実施態様の図である。3軸ロボットは、グリッパアーム56を所望の位置に移動させるためにそれぞれの並進スクリーンと協働する3つのステップモータ201、202及び204を備えている。

インチ/秒で並進し得、且つ、各軸で50.0インチ/秒/秒の並進加速及び各軸で50.0インチ/秒/秒の最高並進減速が可能である。各ステップモータは、ばね重タイプのゼロバックラッシュカップリングを介してまたは直接減速箱によって対応並進スクリーンに連結されている。X軸は各走行端部に位置センサを有し、Y軸及びZ軸はモータ側走行端部に位置センサを有する。

適当な3軸ロボットは販売元から入手可能であり、その一例としては、DAEDAL (Harrison City, PA)製のModel No. 105073P-20Eを挙げることができる。

図示したように、3軸ロボット34、40はグリッパアーム56を含む。図6を参照すると、グリッパアーム56はベース部材58を含んでおり、このベース部材58によってそれぞれのロボットに取り付けられる。ベース部材58は更に斜行部材59に連結されており、部材59は更にジョーアセンブリに連結されている。

グリッパジョーアセンブリは、固定ジョー60とばね荷重ジョー62とを含む。グリッパアーム56は、ジョー60及び62がベースアーム58の軸と垂直に配置されるよ

こではX軸における移動アセンブリを簡単に説明するが、Y軸及びZ軸における移動も同様に行われることは当業者には認識されよう。

X軸移動アセンブリは、ロボットの残りのアセンブリを支持しているプラットフォーム203を並進移動させるための並進スクリーン208に連結されているステップモータ204を含む。X方向での並進移動を安定化するために、案内レール210及び協働直線形軸受け206が備えられている。X方向での位置を決定すると共に並進移動を制御するために、スイッチ212が備えられている。

1つの実施態様においては、X軸及びZ軸の正常作動行程は7.75インチであり、Y軸の作動行程は9.25インチである。各軸は、全行程にわたって最低精度 ± 0.003 インチで位置決めし得ることが好ましい。組立て後の3軸ロボットは、各軸の全行程にわたって最低精度 ± 0.005 インチで位置決めし得ることが好ましい。各軸において、 0.001 インチ/ 1.8° ステップ送り(200ステップ/回転)の最小分解能であるのが好ましい。各軸は、200ステップ/回転、4位相、8ワイヤステップモータによって駆動される。各軸は、最高速度5.0イ

ンチに構成されている。ジョー60及び62の各把持端部は、カートリッジ10の把持を容易にするような角度が与えられている。

グリッパジョー60及び62上にはそれぞれノッチ64及び66が設けられている。ノッチ64及び66は、カートリッジ10を把持し且つ整列すべくカートリッジ10上のリブ27を咬合するのが有利である。

把持動作の際、カートリッジはグリッパジョー60及び62の間で中央合わせされる。アーム56がY軸に沿ってカートリッジ10に向かって動かされると、リブ27がグリッパジョー60及び62の各々の内側表面と関係し、それによってばね荷重グリッパ62は僅かに開かれる。グリッパアーム56はY方向でカートリッジ10に向かって、リブ27がノッチ64及び66と咬合するまで前進される。リブ27がノッチ64及び66内に移動すると、ばね荷重グリッパジョー62はその非荷重位置に戻る。

ばね荷重グリッパジョー62の整列を復出するためにセンサ68が備えられるのが有利である。センサ68は、カートリッジ10が挿入されたときにグリッパジョー62が非荷重位置にあるかどうかを判断する。これによって、更

なる処理を行う前にカートリッジ10がグリップアーム内に適正に位置決めされたか否かを検出する構成が与えられる。適当な検出器は、OPTIK (Carlson, Texase) から市販されているような、Model No. OPB990P51で販売されているスロット式光学スイッチである。

カートリッジ10をグリップジョアセンブリから解放するためには、カートリッジ10は、グリップジョアセンブリから下向きに延伸するリップ部分を含む。リップ部分(図示なし)は、カートリッジ10の一方の側縁、例えば矢印20で示した側から下向きに延伸するリップであり得る。このリップ部分は、グリップアーム56がカートリッジ10からY軸に沿って進みかるとき固定突出縁(図示なし)と関係するように構成されており、突出縁とリップ部分とは、カートリッジ10をグリップジョアセンブリから解放すべく協働する。

次いでカートリッジ10は閉ループビベット域36に移送され、そこで、予め格納されているアッセイに関する情報(詳細は後述する)に基づいて吸引、混合、分注、洗浄及び/または粒子分離作業が実施される。ビベット域は、

ンスファー域38から把持する。次いでイメージロボット40はカートリッジ10を撮取得域42に移送し、そこで撮得情報が測定され、マイクロコンピュータ及び電子回路44(詳細は後述する)によって更に信号処理するために電気情報に変換される。特定のカートリッジ10に対して必要な全ての像が取得されたならば、イメージロボット40はカートリッジ10をアンロード域46に移送する。

ビベットロボット34及びイメージロボット40は相互に独立に動作し、それによりカートリッジ10の並行処理を可能とするのが好ましい。

上述の装置は、移植診断分野において必要とされるHLA及びPRAアッセイを実施するよう設計されているが、該装置は、他の試験手順を包含し得る極めて融通性のある自動化ビベット添加装置及びリードであることが理解される。該装置の有益性の幾つかを以下に記述する。

多くの別の使い捨てカートリッジ構成を採用することができる。長さ5.5インチ×幅3.3インチ×高さ0.55インチの外寸を有するカートリッジにおいて、試料ウェル、反応ウェル、混合ウェル、洗浄ウェル及び試験ウェルを種々の寸法及び組合せで使い捨てカートリッジに組み込むこ

とができる。実際には唯一の制限は、使い捨てカートリッジは底部から脱取り可能であると共に、上部または底部のいずれかから照射される必要があることである。

次いで、イメージロボット40またはビベットロボット34がカートリッジをインキュベーショントランスファー域38内に置く。カートリッジ10はインキュベーション域38内に、必要な反応が起こるのに十分な所定のインキュベーション時間保持される。インキュベーション域38は、装置のビベットロボット34側及びイメージロボット40側の両方からアクセス可能であるのが好ましい。ビベットロボット34がカートリッジ10をインキュベーション域38内に移動させた後には、ビベットロボット34は別のカートリッジの処理を開始すべく自由となる。ロボット34及び40は、必要な回数だけ、また各アッセイの予め格納されている条件によって指示されるままに、カートリッジ10をインキュベーション域38からビベット域36または他の作業域に戻し得るランダムアクセス能力を有する。

特定のカートリッジ10に対して全てのビベット添加及びインキュベーション域での作業が完了したら、イメージロボット40はカートリッジをインキュベーション/トラ

とができる。実際には唯一の制限は、使い捨てカートリッジは底部から脱取り可能であると共に、上部または底部のいずれかから照射される必要があることである。

アッセイの通信規約及び手順は、変更することもできるし、達成することもできる。即ち、任意の数のビベットステップ、インキュベーションステップ及び脱取りステップを任意の順序で行うことができる。インキュベーションステップの継続時間を変えることもできる。アッセイ通信規約を達成する上での1つの制約は、処理能力が通常は悪影響を受けることである。

ビベット添加量の範囲は広い。これまでの試験では1回当たり0.5 μ lから50 μ l以上が分注されている。0.5 μ lの分注に必要な分注プローブの直径は小さいために(0.010インチ)、100 μ l以上の分注に過剰な時間を要する。この制約は、分注プローブを、分注する容量に最適な直径のプローブと置き換えることにより解消され得る。装置上で混合する手段は、フルイディックス吸引/分注によるものかまたは使い捨てカートリッジをロボットによって動かすことにより混合するものである。

手作業で調製された試料が適当なウェル内に入れられた

使い捨てカートリッジは、装置作業者によってロードステーション内に置かれる。一度に最高10個までの使い捨てカートリッジをロードステーション内にロードすることができる。該ステーションは、ロードステーション内に積み重ねられた使い捨てカートリッジから、一番下の使い捨てカートリッジを分離すべく作動する。一番下の使い捨てカートリッジを取り出すことにより、使い捨てカートリッジは装置内に置かれた順番に試験されることが保証される。ビベトロボットはロードステーションに移動し、使い捨てカートリッジをグリッパ内に把持する。使い捨てカートリッジ上のキーが該カートリッジをグリッパ内で整列させる。グリッパ内に配置されたセンサはコンピュータコントローラに、使い捨てカートリッジがグリッパ内に適正に配置されたことを示す。そうするとビベトロボットは使い捨てカートリッジをロードステーションから取り出し、それをバーコードリーダまで移動させる。

バーコードリーダは、固定LEDリーダである。ビベトロボットは、使い捨てカートリッジの端部に位置するバーコードラベルを走査すべく、使い捨てカートリッジをバーコードリーダを横切って動かす。バーコードラベルがう

液体レベル感知は、トランスミッタとして分注プローブを使用すると共に、使い捨てカートリッジの下方に分注プローブと一列に設置された受信アンテナを有するRF（無線周波数）系である。場合によっては、液体レベル感知は分注検定にも使用され得る。

インキュベータは加熱され、34℃±2℃に調整される。最高10個までの使い捨てカートリッジを常にインキュベータ内に格納することができる。いずれかのロボットが使い捨てカートリッジをインキュベータ内に配置したりまたはそこから回収し得る。

読取りロボットは、グリッパの向きが逆転していることを除いてビベトロボットと同様である。読取りロボットは、インキュベータ、リーダ及びアンロードをアクセスし得る。読取りロボットは、ロード、バーコードリーダ及びフルイディックスはアクセスしない。

装置上のリーダは実質的に、検出器としてCCDカメラを有する倒立顕微鏡である。自動対物レンズターレットによって、読取り中のアッセイに対して4種の倍率の1つを選択することができる。1倍から10倍の倍率を試験した。蛍光フィルタバックと組合せた石英ハロゲンランプによ

く読取れたならば、コンピュータコントローラは使い捨てカートリッジのタイプを識別し、その使い捨てカートリッジを処理するのに必要な装置動作を計画する。或いは、この処理のために像形成系を使用することもできる。

ビベトロボットは、使い捨てカートリッジを装置のビベトロボット全体にわたって移動させ得る3軸リニアロボットである。ビベトロボットは、ロード、バーコードリーダ、フルイディックス及びインキュベータをアクセスし得る。読取りは通常は読取りロボットを使用して行われるが、必要であればビベトロボットはリーダをアクセスすることもできる。ビベトロボットはアンロードをアクセスすることはない。

フルイディックス系は、液体を吸引及び分注し、磁気分離、プローブ洗浄及び液体レベル感知を実施し得る。作動に際して、分注プローブは固定され、ビベトロボットは使い捨てカートリッジをプローブまで移動させる。磁気分離のために磁石を適所に移動させるためにはアクチュエータが使用される。プローブ洗浄は、使い捨てカートリッジの一部であるプローブ洗浄ウェル内で行われ、全ての廃液は、使い捨てカートリッジによって装置から排出される。

て、蛍光アッセイに使用される前方照射が得られ、LEDによって、凝集アッセイのための後方照射が得られる。自動フィルタターレットによって、蛍光アッセイにおいては6つのフィルタバックのうちの1つを選択し、凝集アッセイにおいてはフィルタバックを使用しないことが可能となる。

各反応ウェルは、像分析の前に自動的に位置決め及び焦点合わせが行われる。HLAアッセイにおける像分析は、染色された白血球の蛍光像をCCDカメラ上に形成することを含む。各像において細胞をカウントし且つ寸法測定するために、像分析アルゴリズムが使用される。凝集アッセイにおいては、反応ウェル底部の凝集パターンを像をCCDカメラ上に形成する。次いで、像の直径にわたる強度分布から結果を誘導する。

アッセイが完了し結果が出されたならば、読取りロボットは使い捨てカートリッジをアンロードステーションに移す。アンロードステーションは、使い捨てカートリッジを、積み重ねられた使用済使い捨てカートリッジの一番下に加えるべく作動化する。常に最高17個までの使い捨てカートリッジをアンロードステーション内に積み重ねることが

できる。ロード及びアンロードステーションの収容能力は、最高4時間の全く人手のかからない自動化時間を提供する。

該装置が特に優れている箇所は、1つの試料を多数の試験に対して試験し得ることである。クラスI HLAアッセイにおいては単一試料が最高200種類の抗原に対して試験される。装置レイアウトは、この種の試験を最少時間で実施できるよう最適化される。この最適化は、アレルギー試験、微生物感受性試験、または1つの試料を多数の試験に対して試験する必要がある任意の他のタイプの試験に同様にうまく適合され得る。

検出処理及びデータ管理もまた該装置の長所である。CCDカメラの使用及び像分析によって、強度、寸法、パターンまたはこれらの任意の組合せに基づいて反応を評価することができる。フィルタの使用または場合によってはカラーカメラの使用によって、反応を評価するために色を使用することもできる。人間インターフェースワークステーションとしての標準PCは、データの収集、分析及び管理の有効手段を提供する。人間インターフェースワークステーションは、他の実験装置またはLIS(Lab Inform

ポジションにあるところから全ての動きが始まり且つそこで終了する。ビベトロボットは、ホームポジションから、ロード、ビベック、インキュベータ及びリーダまで移動し得る。

読取りロボット

読取りロボットは、トレイを、装置の読取りセクションにわたって移動させるために使用される3軸X-Y-Zロボットである。各軸は、ステップモータ及び並進スクリーンによって駆動される。更に各軸は、該軸のホームポジションを検出するためにホームセンサを使用する。X軸は該装置の左右方向と定義され、Y軸のホームポジションは後端である。Z軸は該装置の上下方向と定義され、Z軸のホームポジションは下端である。

ステップロスを検出するために、3つ全ての軸がホームポジションにあるところから全ての動きが始まり且つそこで終了する。読取りロボットは、ホームポジションから、インキュベータ、リーダ、アンロードまで移動し得る。

リーダ

リーダは実質的に、CCDカメラ上に像形成する倒立顕微鏡である。対物レンズ交換ホイール、フィルタ交換ホイ

elion System、実験情報システム)へのインターフェースとしても役立ち得る。

ビベトロボット

ビベトロボットは、トレイを、装置のビベト添加セクションにわたって移動させるために使用される3軸X-Y-Zロボットである。各軸は、ステップモータ及び並進スクリーンによって駆動される。更に各軸は、該軸のホームポジションを検出するためにホームセンサを使用する。X軸は該装置の左右方向と定義され、X軸のホームポジションは左端である。Y軸は該装置の前後方向と定義され、Y軸のホームポジションは後端である。Z軸は該装置の上下方向と定義され、Z軸のホームポジションは下端である。

ビベトロボット及び読取りロボットのZ軸には、トレイをピックアップ及び保持するために使用される受動グリップが取り付けられている。該グリップは、グリップ内のトレイの存在及び位置を検出する2つのセンサを有する。トレイ不在センサは、グリップ内にトレイがないことを検出する。トレイ位置不適合センサは、グリップ内にトレイはあるが位置が不適正であることを検出する。

ステップロスを検出するために、3つ全ての軸がホーム

ール及び2つの光源を使用することで、リーダは、蛍光読取り装置(抗原アッセイ用)または解糖読取り装置(抗体試験用)として構成することができる。

対物レンズ交換ホイール及びフィルタ交換ホイールは個々に1組のギヤを介してステップモータによって駆動される。各ホイールの周縁に取り付けられた大きなSSTギヤとステップモータに取り付けられたより小さなウレタンギヤとを使用することにより、5.76:1の減速が得られる。ホイールとモータとの中心距離は、ギヤ間に僅かな干渉を与え、それによってゼロバックラッシュ駆動を生むように制御される。

前方照射源は、積分ダイクロイックレフレクタを有する石英ハロゲンランプである。照射光を物体平面に集光するために集光レンズが使用される。未使用のときは常閉ソレノイド作動シャッターが前方照射光を遮断しており、ランプは継続的に放置され得る。このランプを冷却するためにファンが使用され、高温の空気は導管によって装置から直接排出される。ランプは、定電圧駆動装置によって制御される。強度制御は行われない。

後方照射源はLEDである。LEDは、LEDが使用さ

れるときにはオンに、使用されないときにはオフに切り換えられる定電圧駆動装置によって制御される。

抗原アッセイを脱取るためには、対物レンズ交換機構は10倍対物レンズを選択するよう動かされ、フィルタ交換機構は第1蛍光フィルタパック（赤色）を選択するよう動かされる。ウェルの側部と底部との間で高コントラストを有するウェルの像を生成すべくLEDが点灯される。そして、自動位置決め及び自動焦点合わせが行われる（後述）。LEDが消灯されると、死滅細胞（赤色）の像をカメラ上に形成すべく前方向射シャッタが開かれ、最初の脱取り像が取得される。次いでフィルタ交換機構が、第2蛍光フィルタパック（緑色）を選択するよう動かされ、生体細胞（緑色）の像がカメラ上に形成され、2番目の脱取り像が取得される。前方向射シャッタが閉じられると1つのウェルの脱取りが完了する。このプロセスが全てのウェルに対して繰り返される。

（H&Aモードにおいて）抗体アッセイを脱取るためには、対物レンズ交換機構及びフィルタ交換機構が、適正な倍率及びフィルタセットを選択すべく動かされる（倍率はウェルの寸法に応じて1〜4倍で変化する）。凝集パター

リングは、入口と放出口とを有する単一マニホールドに連結されている。入口は弁制御される。閉鎖位置においては、弁は緩衝液シリンジをマニホールドに連結し且つ入口を閉鎖しており、開放位置においては、弁は緩衝液シリンジを緩衝液びんに連結し且つ緩衝液シリンジをマニホールドから遮断する。放出口は、ビベット系加アセンブリの分注チップに直接連結されている。

シリンジは、ベルトを介してステップモータによって駆動されるラックピニオン駆動装置によって作動される。弁は、ステップモータに直接連結されている。

動作は、シリンジがホーム（上位）位置にあり且つ弁がホーム（閉鎖）位置にあるところから開始する。分注チップから吸引及び分注するために、弁は閉じたままでチップが液体中に入られると、シリンジは、要求される分注に適当な距離だけ上向きに（ホームに向かって）移動される。

緩衝液びんから吸引し、次いで分注チップから分注するために、まず弁が開かれ、次いで緩衝液シリンジが下向き（ホームから遠ざかる向き）に移動され、そうして緩衝液びんから試料が吸引される。次いで弁が閉じられると、緩

衝液の像をカメラ上に形成するためにバックライトが点灯される。必要であれば、脱取り像を取得する前に自動位置決め及び自動焦点合わせが行われる。そうしてこれが、全てのウェルに対して繰り返される。

ビベット系加機構 (pipettor)

ビベット系加機構は、液体レベル感知系のための伝送アンテナとしても作用する固定ビベットチップを保持している。下方ユニットは直線形ステップモータによって作動化される。この下方ユニットは、該下方ユニット内ではね荷重されている受信アンテナと、磁気分離ステップに使用される磁石アームとからなる。ホームセンサは、下方ユニットのホームまたは下位ポジションを検出する。

動作は、下方ユニットがホーム（下位）ポジションにあるところから開始する。これにより、トレーをプローブと下方ユニットとの間に置くことができる。次いで下方ユニットを、所望の作業に適正な高さまで移動させるべくモータが作動される。

ポンプ

ポンプは、より小さな試料シリンジとより大きな緩衝液シリンジとを有する双シリンジユニットである。2つのシ

リンジは、要求される分注に適当な距離だけ上向きに（ホームに向かって）移動される。

インキュベータ

インキュベータは、インキュベートされるトレーのための制御温度保管位置である。一度に最高10個までのトレーをインキュベータ内に置くことができる。

大きなアルミニウムブロックから伝導性インキュベータが機械加工される。アルミニウムの高い熱伝導性によって、インキュベータの場所ごとの温度差は最小限に抑えられる。大きなインキュベータは大きな熱気塊を与え、経時的な温度変動が最小に抑えられる。

3種のヒータ構成のうちのいずれかを使用することができる。第1の構成においては、2つの3インチ×5インチパッドヒータがインキュベータの右側と左側に取り付けられ、RTD (Resistive Thermal Device) センサが中央に配置される。第2の構成においては、ヒータはインキュベータの中央に垂直に挿入される棒状ヒータであり、RTDセンサは側面に表面接着される。第3の構成では、頂部、底部及び左右側面に巻き付けられた幅2インチのヒータと、中央に配置されたRTDセ

ンサとが使用される。

温度制御は、直列リンクを介して装置のコントローラと通信し得る独立コントローラによって制御される。

ロード

ロードステーションは、最高10個まで積み重ねられたトレーを作業員から受取り、一回に1つのトレーをFID順序でビベトロボットに与える役割を果たす。ロードプラットフォームアセンブリは直線形ステップモータによって作動される。ロードプラットフォームアセンブリホームセンサは、ロードプラットフォームアセンブリのホーム即ち上位位置を検出し、ロードプラットフォーム伸張センサは、伸張即ち下位位置を検出する。トレーインロードセンサは、ロードステーション内に少なくとも1つのトレーが存在することを検出する。ドアセンサは、ロード/アンロードドアが開いているか閉じているかを検出する。

1~10個のトレーをロードプラットフォームアセンブリ上に積み重ねることができる。ロードプラットフォームアセンブリが下降される時、カム作動化ストップが一番下のものを除く全てのトレーを保持すべく介入し、更に下降が続くと一番下のトレーは、ビベトロボットによってビッ

クアップされるよう積重ね体から分離する。一番下のトレーが取り出されると、ロードプラットフォームアセンブリは、カム作動化ストップが通ざるときに残りのトレーを保持するために上向きに移動する。

ロードステーションの下方には2つのスタートトレー用固定スタートスロットがある。いずれかのスタートスロットに入れられたトレーは、ロードステーションにあるトレーより先に処理される。トレーインスタートセンサ(2)は、スタートスロット内のトレーの存在を検出する。ビベトロボットはトレーをスタートスロットから直接取り出す。

ロードステーションには固定非接触バーコードリーダが装備されている。トレーをロードステーションまたはスタートスロットから取り出した後、ロボットはトレーを、トレーの端部にあるバーコードラベルをバーコードリーダのそばでトレーIDを読み取るように動かす。

ロードまたはアンロードステーションの動作の間ロード/アンロードドアをロックするためには、ソレノイド作動化ドアロックが使用される。これは、作業員をロード機構から保護するためである。

アンロード

アンロードステーションは読取りロボットから使用済みのトレーを受取り、それらを、作業員が取り出せるように最高17個まで積み重ねる。アンロードプラットフォームアセンブリは直線形ステップモータによって作動される。アンロードプラットフォームセンサはアンロードプラットフォームアセンブリのホーム即ち上位位置を検出し、アンロードプラットフォームアセンブリ伸張センサは、伸張即ち下位位置を検出する。アンロード75%フルセンサは、アンロードステーション内に少なくとも13個のトレーが存在することを検出する。アンロードフルセンサは、アンロードステーション内に17個のトレーが存在することを検出する。アンロードドアセンサは、アンロードドアが開いているか閉じているかを検出する。

アンロードステーションは、使用済みトレーが装置からアンロードされる準備ができるまでホームポジションを維持する。読取りロボットが使用済みトレーを持ってアンロードステーションに向かって移動すると、アンロードプラットフォームアセンブリアクチュエータはアンロードプラットフォームアセンブリをホームポジションから伸張ポジション

まで移動させる。既にアンロードステーションにあるトレーは、ばね荷重ストップによってアンロードプラットフォームの上方の適所に保持されている。読取りロボットはトレーをアンロードプラットフォーム上に置き、それを解放するか、またはアンロードアセンブリにある解放特性によってトレーから解放される。次いでアンロードプラットフォームアセンブリはホームポジションに戻される。アンロードプラットフォームアセンブリが上向きに移動すると、アンロードプラットフォーム上のトレーがばね荷重ストップを開かせ、トレーは既にある積重ねに加えられる。

ロードまたはアンロードステーションの動作の間ロード/アンロードドアをロックするためには、ソレノイド作動化ドアロックが使用される。これは、作業員をアンロード機構から保護するためである。

液体レベル感知及び液体分注

上述したように、カートリッジ10の反応ウェル16は、数 μ l(約2~3 μ l)の油で覆われた μ l量の抗血清を含む。試料を反応ウェル16に分注するために使用される液体分注及び液体レベル感知系は、分注プローブが油の上下面に挿入された時点を検出し得ることが必要である(図

2 参照)。

試料(または分注される他の液体)の小滴が各反応ウェル16内に実際に堆積されたことを保証するため、装置は、小滴が分注プローブ上に形成された時点、形成された小滴が分注プローブから離脱した時点、及び分注プローブが抽または血清中に挿入された時点を検出し得ることが望ましい。真に好ましい作業態様においては、分注プローブが抽または血清中に挿入された後に小滴が形成され、プローブが液体から引き出されるときに試料小滴が分注プローブから「拭き取られる(wiped off)」。小滴形成及び離脱に関する情報を使用する閉ループ系と組み合わされた上記方法では、試料が各反応ウェル内に実際に堆積されたことが保証される。

しかしながら、他の態様の小滴形成及び分注も可能であることは当業者には認識されるであろう。例えば、分注プローブを液体試液中に挿入する前に、小滴を分注プローブ上に空気中で形成することもできる。

本発明の液体分注系の実施態様を図7に概略的に示す。液体分注系は、液体を分注するための分注プローブ70を含む。上述したように、分注プローブ70を反応ウェル

16の蓋面上に分注されるよう、分注プローブ70を反応ウェルの縁部またはリムに配置してもよい。

反応ウェル16が適正に位置決めされると、発振器74からの信号のモニタリングが開始される。RF信号は反応ウェル16内の液体中及び容器を通過し、伝導性エレメント72によって受け取られる。伝導性エレメント72に受け取られた信号は、増幅器及びフィルタ78によって増幅及び濾波される。次いで信号は、好ましくは全波整流器80によって、出力信号が受信RF信号の振幅に対応するDC値となるように変換される。次いでDC信号は増幅器82によって増幅され、アナログーディジタル(A/D)変換器84によってディジタル信号に変換される。

図8を参照すると、液体分注系のための制御系の実施態様が表示されている。変換及び濾波されたDC信号は必要に応じては抽出及び保持回路86に与えることができる。ステップモータ制御ユニット88からパルスが生成される都度、抽出及び保持回路86の抽出が行われ、従って、DC信号値と試料カートリッジ10の相対位置とが同期される。DC信号は、ステップモータ制御ユニット88からのパルスの立下り区間においてロックされ、論理信号がディジ

タに關して位置決めするために、3軸ロボットはステップモータを使用することによりカートリッジ10をX、YまたはZ方向のいずれかにおいて移動させ得る。

正弦波または方形波発生器(発振器)74は無線周波数(RF)信号を生成し、この信号は増幅器76によって増幅されてから分注プローブ70に転送される。分注プローブ70からRF信号を受け取るために、伝導性エレメント72が備えられている。伝導性エレメント72は増幅器78に電気的に接続されている。増幅器78は、以下に詳述する更なる処理のために、伝導性エレメント72から受け取った信号を増幅する。別の実施態様においては、伝導性エレメント72は、後述する粒子分離過程及び作業に使用される磁石であり得る。

カートリッジ10は、反応ウェル16が分注プローブ70の下方でおおよそ中央合わせされるように位置決めされる。この位置決めは、最初にロボットをトレーニングすることにより達成される。好ましい実施態様においては、分注プローブ70は反応ウェル16の底部の上方約3mmのところにある。別の実施態様においては分注プローブ70は他の位置に配置することもできる。例えば、小滴がウェ

ル16の蓋面上に分注されるよう、分注プローブ70を反応ウェルの縁部またはリムに配置してもよい。

ル16の蓋面上に分注されるよう、分注プローブ70を反応ウェルの縁部またはリムに配置してもよい。

ル16の蓋面上に分注されるよう、分注プローブ70を反応ウェルの縁部またはリムに配置してもよい。

ル16の蓋面上に分注されるよう、分注プローブ70を反応ウェルの縁部またはリムに配置してもよい。

トリッジ10が同じく上向きに約0.5mm更に移動することで処理が実行される。この移動の間、予知外の状態をチェックするためにDC信号は継続的に抽出、デジタル化及び分析される。この移動の終了時には、分注プローブ70の端部は反応ウェル16内の油24の内部にあることが合理的に保証される。

次に、垂直運動と同調するパルス流を無効にするためにマイクロコンピュータ44から信号“M”が送られる。この同じ信号“M”によって、DC信号値をステップモータ駆動及び分注ポンプと同調させるパルス流が有効となる。所定数のステップにおいて分注ポンプを駆動するステップモータを稼働させるプログラム命令が発せられ、DC信号値はマイクロコンピュータ44によって再び抽出、デジタル化及び分析される。小滴を分注するプロセスは、DC信号に適正な増加が認められるまで実行されるか、またはDC信号値に増加がないもしくは容認不可能な増加があった場合に停止される。

小滴がうまく生成及び分注されたならば、カートリッジ10を下向きに動かすべくプログラム命令がステップモータ制御ユニット88に送られる。この移動の間、DC信号

値がマイクロコンピュータ44によって抽出、デジタル化及び分析される。分注プローブ70の先端が上位液層、例えば油の表面に接近すると、小滴の“拭き取り(wipe-off)”プロセスが行われてDC信号値の急増が認められ、このことで、小滴が実際にプローブから離れ、反応ウェル16中に分注されたことが確認される。

本発明の液体レベル検出回路からの出力信号V_{oc}を図10に示す。この例では、プローブ70を、油層によって覆われた試薬を含む反応ウェル中に挿入し、小滴を液体中で形成した。原点から“A”で表された電圧までの曲線部分は、プローブ70が油層の上面に接近するときに生成された信号に対応している。“A”及び“B”で表された電圧間の曲線部分は、プローブ70が油層中を試薬に向かって進行しているときに生成された信号に対応している。“B”及び“C”で表された電圧間の曲線部分は、液体中での小滴の形成に対応している。“C”で表された電圧から斜めに減少している曲線部分は、プローブ70が引き出されたときに生成された信号に対応している。曲線の勾配は、小滴がプローブ70から解放された時点T₀まで急激に減少し続け、それから曲線の勾配は一気に下降している。

図14に示した信号は、勾配に急激な変化があったときにピークが生成され且つそれが検出されるよう、必要によっては微分し得ることが利する。微分は、適当な微分回路またはマイクロコンピュータ44によって実施することができる。

次に、RF増幅回路を説明する。図9に示したように、増幅回路100は2つの連続増幅器118及び124で構成されている。増幅器118の正入力端子は抵抗器111及びコンデンサ110を介して伝導性エレメント72に接続されている。増幅器118の正入力端子は更に、出力作用点Aを電極109の1/2に維持する抵抗器112及び113で形成されている電圧分圧回路に接続されている。抵抗器112、113及びコンデンサ110は、回路の感受性を低周波数信号に低下させるための高域フィルタとして作用する。増幅器118の負入力端子は抵抗器114及びコンデンサ115を介して接地されると共に、抵抗器116を介して出力端子にも接続されている。

デカップリングコンデンサ115によって、単位DC利得をもってして増幅器118の高AC利得が可能とな

る。増幅器118のAC利得は抵抗器116及び114によって規定される。

増幅器118の出力端子は抵抗器117を介して接地されていると共に、コンデンサ119及び抵抗器120を介して増幅器124の入力にも接続されている。増幅器124の正入力端子もまた、抵抗器121を介して接地されている。増幅器124の負端子は抵抗器122を介して接地されていると共に、抵抗器123を介して出力端子にも接続されている。増幅器124の利得は抵抗器123及び122によって規定される。

次に、全波整流及び濾波回路を説明する。整流回路はコンデンサ125を介して増幅器124の出力端子に接続されている。図9に示した整流及び濾波回路41の実施形態においては、2つの増幅器137及び138が、DC信号139を生成すべく種々の抵抗器、ダイオード及びコンデンサに公知の構成において接続されている。

増幅回路100からの負信号に対しては、増幅器137の出力はダイオード128によって0.7Vにクランプされると共に、増幅器138の負端子からはダイオード131によって遮断される。このとき増幅器13

8は、入力抵抗器130及び帰還抵抗器135を有するインバータとして作用し、演算増幅器138の出力端子に正信号が与えられる。

増幅回路100からの正信号に対しては、演算増幅器137は、入力抵抗器126及び帰還抵抗器132を有するインバータとして作用し、演算増幅器138は加算インバータとして動作し、再び正出力139が与えられる。抵抗器126、129、130及び135が同じ値を有し且つ抵抗器132が抵抗器130の半分の値を有する場合、回路101は正確な全波整流器として作用する。回路101は、抵抗器135及びコンデンサ134によって形成される時定数が、平均化された入力電圧の最大時間よりずっと大きい場合には平均化フィルタ(averaging filter)になる。

次に図11を参照すると、方形波発振回路の1つの実施態様が示されている。方形波発振回路は、5つの抵抗器215、216及び218と、コンデンサ217及び220と、演算増幅器219を含む。好ましくは50%デューティサイクルTTレベルで動作する発振器は、コンデンサ217に接続されており、抵抗器215を介して接地さ

れている。適当な発振器は、Wave tekからModel No. 145として入手可能な関数発振器である。演算増幅器219は、抵抗器215及び216の値によって決定される利得で信号を増幅する。増幅器219の出力は、コンデンサ220を介して伝送アンテナACに接続されている。

次に、本発明の装置及び方法の別の実施態様を説明する。この実施態様は、高い誘電率を有する別の流体が検出されたとき流体分注が行われることで上述の実施態様とは異なる。以下に記述する方法においては、2つの流体は同様の粘性を有しており、従って該方法によって2つの流体は混合される。

ここでも、所定数のステップにおいて移動すべくプログラム命令が発せられるとカートリッジ10が上向きに移動することからプロセスは開始する。上向き移動は、油面が検出されるかまたは上向き移動の終了が検出されるまで続行される。一旦分注プローブ70が油に接触すると、油面が検出され、プログラムは、上向き移動を停止する命令を発する。この時点で、カートリッジ10の相対位置がチェックされる。カートリッジ10のZ方向における相対位置が

(マイクロコンピュータメモリ内に記憶されている)所定範囲内であるならば、カートリッジ10を上向きに移動させる別のプログラム命令が発せられる。上向きに移動させるステップの数は所定の値に等しく、上向き移動は、ステップモータの連続する2つのステップ間のDC信号値に有意な増加があるまで、または上向き移動の終了が検出されるまで続行される。DC信号値の急増は、油よりも大きい誘電率を有する流体が存在することを意味する。そこで上向きの移動は停止され、上述の分注作業が行われる。図14は、この実施態様における検出回路からの信号を示している。電圧レベル“A”の信号は、油面が検出された時点を表しており、時点T₁の電圧“B”及び“C”間の信号は、プローブがウェルの底部にある流体に接触したときの分注プロセスを表わしており、時点T₁及びT₂間の曲線は、プローブの向きの変化を表わしている。時点T₂で油の下面に達したときに小滴は“拭い落とされた”。信号は、油面に到達するまでは急激に減少しない。

光学素子

図12を参照すると、本発明の分析装置の光学または像形成ユニットの1つの実施態様が示されている。光学ユニ

ットは、少なくとも2つのフィルタブロック171を含むターレット177を含むのが好ましい。ターレット177はモータ175によって回転される。各フィルタブロック171は、励起フィルタ170、出射フィルタ172及びダイクロイックミラー174を有する。好ましくはタングステンハロゲンランプである光ランプ176は白色光を与える。光は、集光器173によって集光されてから励起フィルタ170を通過し、次いでダイクロイックミラー174によってカートリッジ10に向かって反射される。そうすると光は、拡大レンズまたは対物レンズ178を介して反応ウェル16に与えられる。拡大対物レンズは10倍拡大対物レンズであるのが好ましい。光は反応ウェル16内の物体によって反射される。試料ウェル16から反射した光は、対物レンズ及びダイクロイックミラー174を通過してから、更に出射フィルタ172を通過する。出射フィルタ172を通過した光は次いで光検出器180のCCD素子185に達し、そこで光は以下に詳述するように処理される。図12に示したように、該構成は、各反応ウェル16の底部を介して読み取る倒立顕微鏡に類似である。図示したように光学系は更に、少なくとも2つの対物レンズ1

78を保持するように構成された対物レンズターレット179を含むのが好ましい。更に光学系はバックライト源(詳細は後述する)を任意に含むことができる。

図17には光学ユニットの別の実施形態の側方横断面図が示されている。図17の光学ユニットは全体的に縮尺して表わされており、図12には示されていない追加エレメントが示されている。例えば、CCDカメラ190; フィルタブロックターレット230; 及びフィルタブロックターレットモータ232が図12のエレメントに加えて示されている。

フィルタブロックターレット177は、少なくとも8つまでのフィルタ、例えばNikon(日本)販売のフィルタパックを像形成位置に回転し得る半径があって、360°の回転範囲を有するのが好ましい。レンズブロックまたは対物レンズターレット179は、少なくとも4つまでの標準顕微鏡対物レンズを像形成位置に回転し得る半径があって、やはり360°の回転範囲を有するのが好ましい。各ターレットは、全回転範囲において \pm 約0.003インチの最低精度で位置決めし得る必要がある。組立て後の各光学モジュールは、各ターレットの全回転範囲において

ある。ダイクロイックミラー174は発光体176に対して45°に配置され、約510nmの特性波を有するのが好ましい。励起フィルタの主波長は好ましくは470nmであり、バンド幅は約40nmである。射出フィルタ172は520~560nmのスペクトル透過範囲を有する。

緑色励起/赤色発光に対しても例えばNikon(日本)販売のG-2A Epil-蛍光フィルタ装置のごときフィルタパックが市販されている。ダイクロイックミラー174もランプ176に対して45°に配置されており、約480nmの特性波を有する。励起フィルタ170は約535nmの主波長を有し、バンド幅は約50nmである。射出フィルタ172のスペクトル透過範囲は590以上である。

拡大対物レンズ178もまた市販されており、例えば開口数0.25及び作動距離5.2を有するNikon Plan 10 DLとすることができる。この開口数の大きい対物レンズは、蛍光像の光度を増強するために望ましい。

ランプ176のランプ色温度は、青色励起に対しては3000°K以上であるのが好ましい。ランプ光出力は400ルーメン以上であるのが好ましい。

\pm 約0.003インチの最低精度で位置決めし得る必要がある。

図示したように、光学モジュールは、2つの直接/駆動ステップモータ駆動回転プラットフォームを含むのが好ましい。各軸は、VEXTA(東京、日本)販売のModel No. PX24402DAのような、400ステップ/回転、4位相、8ワイヤステップモータによって駆動されるのが好ましい。

フィルタブロック及びレンズターレットの各サブアセンブリは、フィルタパック及びレンズが、カメラ内で蛍光試験像を作る光のピーク強度によって測定したときに、最適光経路の+1または-1ステップ内にあるような“ホーム”回転位置に位置センサを有するのが好ましい。該センサは、OPTEK(Carlson, テキサス)製のModel No. OPB990P51のようなスロット式光学スイッチのごとき非機械的タイプのものであるのが好ましい。

青色励起-緑色発光に対しては適当なフィルタパックが市販されている。適当なフィルタパックは例えばNikon(日本)販売のB-2E Epil-蛍光フィルタ装置で

顕微鏡の対物レンズとリレーレンズとを組合せて使用する場合には、中性密度フィルタ(図示なし)を与えることが有利となり得る。この実施形態においては、リレーレンズ及び中性密度フィルタパックと組合せて、4.0倍ペリフォーカル(perifocal)拡大対物レンズを使用することができる。凝集アッセイを読み取ることに使用するために、LEDのような透過光源181を備えることもできる。

光学系は、像の焦点を合わせるために自動焦点調整手段を含むのが好ましい。現在考えられる1つの実施形態においては、LED181は、ウェルの鏡上に焦点を合わせるように使用される。この方法を用いて焦点調整するための幾つかの自動焦点アルゴリズムが当分野において使用可能である。例えば1つの適当なアルゴリズムは、“Threshold Gradient Magnitude Scheme”に基づいている。このアルゴリズムは、論文“Implementation of Automatic Focusing Algorithms for a Computer Vision System With Camera Control”, Schl

ag et al., Carnegie-Mellon
University, August 15, 1983
(CMU-RI-TR-83-14)に記載されており、
この論文は参照により本発明の一部を構成するものとする。

下記の表1に、本発明の装置及び方法と一併に使用し得る
適当な発光光源の励起及び発光波長を列挙する。

表1

発光光源	励起波長	発光波長
5(6)カルボキシフルオレセイン ジアセテート(約95% HPLCとの混合 異性体)C ₂₂ H ₁₆ O ₆ , P#460.4	490nm	520nm
ヨウ化プロピジウム (約95~98% TLC) C ₂₁ H ₁₈ N ₂ I, P#688.4	535nm (結合)*	602nm

*-結合発光周波数において励起

像処理

上述したように、本発明の装置及び方法に使用される像
処理ユニットは、各反応ウェル16内で緑色及び赤色色素
で染色された生体細胞対死滅細胞の比を決定する。各ウェ
ルにおける反応評価は、全細胞数に対する死滅細胞の割合
に基づいて行われる。人により評価が行われる当分野の現

odel No. OC-300として入手可能である。適当
なソフトウェアもCorecoからFG3ソフトウェアパ
ッケージとして入手可能である。像処理システムは、表示モ
ニタ194を備えたPCコンピュータによって実行される。
適当なPCコンピュータは、幾つかの販売元、例えばCo
mpaqから入手可能なIBM AT Compatible 25MHz 386である。該システムは、得られた
像を表示するためのモニタ192、例えば標準RS170
イメージモニタを含む。適当なモニタは、Hitachi
Denshi, Ltd. (Woodberry, N.Y.)
からModel No. VM-12016として入手可能で
ある。デジタル信号処理(DSP)カード224はシス
テム性能を増大する(詳細は後述する)ことが見込まれ有
利である。DSPカード224は処理能力をフレームグラ
バ222単独での6倍に増大する。即ち、フレームグラ
バ222のみしか使用しないと像1つ当たりの処理に少なく
とも4秒を要するが、DSPカード224による処理は1
/2秒以下となることが見込まれる。

フレームグラバ222からのデータは標準ATバスを介
してDSPカード224に転送し得るが、これは、主マイ

特表平6-507498 (19)

在の慣用法のごとく、評価は1~8の範囲で行われる。評
点1は、ほとんどの細胞が抗血清と反応せずに生体(緑色)
で存在することを示す。これとは反対に評点8は、ほとん
どの細胞が抗血清及び発光光源と反応して死滅(赤色)し
て存在することを示す。

HLA型判定において問題の細胞の大きさは直径が6~
12ミクロンであり、100~300細胞/像であるのが
好ましい。これは、倍率10として512x484分解能
を使用すると1細胞当たり9画素面積を占めることになり、
鮮明な蛍光を示す一部の細胞では単一細胞で最高81画素
面積を占めることを意味する。平均蛍光細胞数対バックグ
ラウンド平均の比は少なくとも3:1であるのが好ましい。

図13に示したように、1つの実施形態においては、像
処理系は固体電荷結合デバイス(CCD)カメラ190を
含む。CCDカメラ190はフレームグラバ(frame
grabber)222に結合されている。フレームグ
ラバ222は、内蔵演算及び像処理処理ユニットを含むのが
好ましい。適当なフレームグラバ222はCoreco
Montreal, (Montreal, カナダ)からM

クロコンピュータに重負荷を与える。従って、DSPカー
ド224は(点線で示されている)ビデオバスを介してフ
レームグラバ222に接続するのが好ましい。このこと
により主プロセッサは他のタスクのために解放される。

本発明に使用するのに適していると立証されたCCDカ
メラは、Hitachi Denshi, Ltd. (Wo
odberry, N.Y.)から入手可能なModel N
o. KP110である。

以下、本発明の像処理段に使用し得る幾つかのアルゴリ
ズムを説明する。1つの実施形態においては、フレームグ
ラバの範囲/オフセット作業及びライブ/取得作業を制御
するためにFG3ソフトウェアが使用され得る。範囲及び
オフセットは例えば、典型的には、金析32/256のゼ
ロ値をシフトし、16/256の範囲を最高密度に拡張す
る、それぞれ16セット及び32セットであり得る。先の
値は、最高コントラストの値を最少量のノイズで与えるこ
とが判明した。一旦像の焦点が上述のごとく合わせられた
ならば、像は取得され、次いで保存される。この時点から、
全ての処理はコンピュータRAMにおいて完全に行なわれ、
結果はEGAまたはVGAスクリーン上に表示される。

バックグラウンド色の勾配を補償するためには行正規化法を使用することができる。各行のデータ(512点)を加算し、次いで512で除算し、しきい値決定(thresholding)の際のその行のベースラインとして評価する。任意の点における全像正規化(行及び列)は、その点の元値から行平均及び列平均を減算した値の平均である。負の値を避けるため、これは、(行)平均を手作業で入力したしきい値に加算することにより行うこともできる。

小さな“霜降り(salt and pepper)”ノイズを像から排除するため、最近隣接フィルタ回法(nearest neighbor filter convolution technique)を使用することができる。倍率10、CCD素子サイズ1/2インチ及び6~12M細胞サイズを基準にして、実質的に円形であり面積にして少なくとも9つの画素からなる細胞において、所与のしきい値より大きい強度を有する隣接画素を持たない画素は重要でない。

当業者には認識されるように、このタイプのフィルタ処理には多数の異なる様または重みがある。使用し得る1つ

例えば、値48がこの方法でうまく作用することが判っている。

一旦全てのパラメータを選択したならば、像を走査するために“反転充填(reverse fill)”アルゴリズムを使用することができる。この反転充填アルゴリズムは、左上から右に向かって走査し、最初のゼロでない画素を検出したときに停止する。好ましくは次いでカウンタが初期化され、そのライン上で(ゼロ)バックグラウンド画素を検出するまで検索を続行しながら増分される。検索は、1行下の最初の画素に戻り、左に向かって最初のバックグラウンド画素が検索される。先のフィルタ処理によって全てのエレメントは2次元であることが保証されているので、この方法は容認可能である。最も左側にあるゼロでない画素が検出されたとき、カウンタは再び、最も右側の画素に到達するまで増分される。最後にチェックした行より下に画素がなくなるまで、このプロセスが後続の各行に対して続行される。

上記方法は、HLAアッセイにおける細胞のようにエレメントが多少なりとも円形である限りはうまく作用する。しかしながらこの種類のアルゴリズムは、細胞クラスタマ

の方法は、任意の画素が、選択されたしきい値以上の少なくとも1つの他の画素をその位置の(横方向または斜め方向で)上方または下方に有するか、または該画素値がゼロになる必要がある。このことで全ての単一画素ノイズエレメントは排除され、全ての“生き残り”エレメントが2次元になる。

より一般的な方法は、像の対応する値の重みを各画素に乗算する、典型的には値“1”の3×3の領域上にマッピングされる3×3核“K”を使用する。結果は、加算され、重み合計で除算される。

一旦像を正規化し、しきい値としての正規化値を使用してフィルタ処理したら、アルゴリズムは、手作業で選択されたしきい値を促すのが好ましい。これは、バックグラウンドの色を見、最も明るいバックグラウンド色をカラーバーと比較することにより決定される。カラーバーの各色は、順位の16グレイスケール強度の値を有する。一般にこの値によって、幾つかのより弱い細胞を収縮させる可能性はあるが、コントラスト及び焦点に従って全てのバックグラウンドが確実に排除される。データ損失が最少である最良の選択を与えるためには幾つかの実験が必要となり得る。

または他の非円形エレメントが像中にある場合、特に横方向に大小のある“ダンベル”形のエレメントにおいては、中央行は別として左側の大エレメントの大きさは適正に判断されるが、右側のエレメントは半分に分断されるという欠点を有し得る。上記及び他の同様のエラーが起こり得るが、細胞寸法測定及びその後のカウントは、人による読取りに匹敵する評価を与えることが判明した。

各画素をカウントするとき、選択された2値色に8を加えることによりその色は明るい値に変化する。一旦エレメントの処理が完了すると、その寸法が選択範囲と比較される。細胞がその範囲内にあるならばプロセスが繰り返され、色は明白色(色15)に変えられる。次いで、像全体が検索されるまで次のエレメントの始まりを検索するラスタ走査が続行される。

上記方法は適当ではあるが、極めて長時間を要する上に、処理時間が境界検出時間に加えられ、従ってよりいっそうのオーバーヘッドを生じる。

上述のアルゴリズムは、VGAまたはEGA表示カードを備えたシステムに使用することができる。EGA表示カードを使用する場合、EGA表示カードは16色分解能に

よる640×350画素を有しているが、得られる像は256グレイスケールによる512×484画素であるが故に、何等かの変更が必要となり得る。アスペクト比の大きな変化が細胞を歪ませ、円形よりはむしろ縦方向に細長く見せる。このことは、X軸において各画素を2つずつ重複させて320×350の視野ウィンドウ即ちほぼ1:1のアスペクト比を与えることにより解決し得る。グレイスケール強度を4ビット右にシフトし、即ち16で除算し、次いで考え得る16色にマッピングすることができる。所望であれば、この類似色マッピングは、入手可能な640×480分解能がもはやアスペクト比問題を与えず、全原像を表示し得るビデオグラフィックアダプタ(VGA)において使用することもできる。

別の実施態様においては、“輪郭特性抽出(contour feature extraction)”アルゴリズムが使用される。“反転充填”アルゴリズムと“輪郭特性抽出”方法とでは2つの主な相違がある。両方とも像を左上から右に向かって最初のゼロでないエレメントを走査するが、輪郭アルゴリズムは、隣り合う非強固表示画素を、輪郭が完成するまで反時計回りに探索することにより、

みを平均化することで信号対ノイズ(細胞対バックグラウンド)比を十分に向上し、更にフィルタ処理することなくかかる像を使用することができる。このことにより、処理オーバーヘッドを主コンピュータに加えることなく、処理能力が著しく増大される。

像ウィンドウ内で局所的な自動しきい値決定及び2値化を実施し得ることは、自動評価において望ましい。これは、Coreco販売のソフトウェアを使用し、ユーザ仕様サイズ、例えば32×32画素のウィンドウにおいて統計分析を実施し、ウィンドウのヒストグラムのピークを見ることによりそのウィンドウ内に任意の細胞が存在するか判定することにより行うことができる。ただ1つのピークしか存在しないならば、これはバックグラウンドピークと仮定され、その領域内に細胞は存在しない。2つのピークが検出されたならば、バックグラウンドピークとフォアグラウンドピークとの間のユーザ選択パーセント距離によってしきい値が選択され、この値を使用してウィンドウが2値化される。ここから、反応ウィンドウ16の自動評価を完了すべく、上述の輪郭寸法測定/カウントアルゴリズムが使用され得る。

エレメントの周縁のベクトルマップを生成する。次いでエレメントの寸法がベクトルマップから計算される。

しかしながらこの方法は、各エレメント内の全ての画素ではなく各エレメントの周縁のみに注目する。これを、原像データのディスクスワッピングではなくてフレームグラバ222において処理することと組合せると共に、寸法測定/カウントアルゴリズムを実行中に手作業で選択された全フレームしきい値の2値化を実施し得ることで、処理能力が大幅に向上する上に、エレメントの形状に起因するエラーが排除される。輪郭特性抽出アルゴリズムは、バックグラウンドの高コントラスト像にできえうまく作用する。しかしながら該アルゴリズムは、しきい値を手作業で選択することが必要であり、バックグラウンド光の勾配または他のフィルタ処理を考慮していないが、これらのことは全て自動評価に望まれている。

別の実施態様においては、リアルタイムの像平均化のためにフレームグラバ222が使用される。この方法は、選択された数のon the flyの像データフレームを加算し、中間結果を第2フレームバッファ内に維持する。アッセイ作業において問題の像に対し、2~4つのフレー

最も好ましい実施態様においては、高速自動しきい値決定及び2値化を実施するためにDSPカード224が使用される。DSPカード224は、並行高速乗算器及び加算器を備えたプロセッサと、別個の命令及びデータバスとを含むのが好ましい。

上記に簡単に記載したように、1つの実施態様においては、フレームグラバ222は像を取得し、それらをAT主コンピュータバスを介してDSP入力バッファに小ブロックで伝送する。DSPは、データを受取ると、しきい値を自動的に決定する全ての演算を実施し、像を2値化し、寸法測定及びカウントすべきエレメントを圧縮する。各エレメントの処理が完了すると、結果はDSP出力バッファ内に置かれる。ここから、主コンピュータによって最終的な寸法測定及びカウントが行われる。

より好ましくは、データはフレームグラバ222からビデオバスを介して直接伝送される。このことにより主コンピュータは他のタスクから解放され、マルチプロセッサ構成の利点を十分に活かすことができる。

自動位置決めアルゴリズム

2種類のアプローチを検討した。いずれの方法の試験も優れた結果を与えた。

方法 #1

この方法の目的は、まず像中でウェルの縁部を位置決めし、次いで中央を位置決めすることにより、像内でのウェルの位置を決定することである。

ソフトウェアは、像の各側面からの断面またはライン状の画素値を得る。図19において、かかるラインは、AB、BC、CD及びDAの断面に対応する。図19における像の断面を図20に示す。BC断面においては、ウェルの左縁は黒から白への遷移によって示されており、ウェルの右縁は白から黒への遷移によって表されている。

断面を個々に分析する場合、それは4つの可能性のうちのいずれかで表され得る。全ての画素が“白色”値を有するならばその断面はタイプ1と定義される。全ての画素がこのように2つの遷移を含むならばその断面はタイプ2と定義される。

タイプ1-全てが白色画素；

タイプ2-全てが黒色画素；

においてウェルの縁部を見つけ、トレーを動かすことによりかかる縁部を既知の位置に再配置し、このプロセスを繰り返す。ウェルの像はたった2回の反復でフレームの中央に合わせられる。

ソフトウェアは、X軸においてウェルの縁部位置（図25の点A）を見つける。これは、像内の全ての横方向断面の縁部を分析することにより得られる。認められた全ての縁部について、ソフトウェアは最小X座標を有する縁部を選択する。ソフトウェアはウェルを、縁部の位置がフレームの中央にくるように動かす。X軸の最小または最大位置が再度決定される。ウェルとフレームとの幾何学的関係のために、この新しい位置はX軸内の縁部位置を表す（図26の点B）。ウェルがフレームの中央に置かれることを保証する所定の座標に縁部位置を配置すべく、ウェルが移動される。

自動焦点調整アルゴリズム

自動焦点調整機能の目的は、像の最高解像度を決定することである。基本動作は、像を取得し、解像度を測定し、最適焦点までのZ軸における変位を計算し、トレーを新しい位置まで移動させることである。

タイプ3-1回の遷移（白から黒または黒から白）；

タイプ4-2回の遷移（白から黒及び黒から白、または黒から白及び白から黒）。

各断面にタイプを割り当てたなら、そのタイプを総合的に分析する。1組の断面タイプによって視野内の物体の向きが決定される。例えば図21は、断面が順序1-3-2-3を有する場合のウェルの個々の向きを示している。図22は、順序4-2-2-2に対するウェルの向きを示している。順序1-1-3-3の構成は図23に示されている。図24は、断面の順序2-2-3-3に対応する像を示している。像及び問題の物体、即ちウェルの底部との物理的及び幾何学的関係に従って、他の向き、即ち軸の順序も考え得る。

ウェルの向きが既知となったならば、像内でのその座標を計算することができる。ウェルの物理的特性及び視野は既知であるので、各断面における遷移の位置と、像内でのウェルの向きとによって、ウェルの中央の座標を決定するのに十分な情報が与えられる。

方法 #2

この方法では、ウェルの像を1次元に規定し、その次元

以下のステップによって自動焦点調整作業が行われる：

1. 像を取得する。
2. ウェルの縁部に沿って問題の領域（ROI）を生成する。ROIは、像処理を行う領域を制限し、計算に要する時間を短縮する。図28は、像上に重ね合わされた問題の領域を示している。
3. 問題の領域においてSobelエッジフィルタを適用する。このフィルタは、強度勾配の大きさの推定値を与える通常の像処理機能を有する。縦方向及び横方向エッジのような他のフィルタを使用することもできる。
4. 問題の領域におけるヒストグラムを計算し、該ヒストグラムに対するしきい値を計算する。これまでのところ、しきい値の値は経験的に決定されている。別の方法では、各像に対して計算される動的しきい値が導かれる。図29は、ROIの典型的なヒストグラム及びしきい値を示している。
5. しきい値と上限値との間の値を有する画素数を加算する。和は、焦点品質の測定値であり、焦点度が増加すると共に変動する。

6. 一旦焦点品質測定値が既知となったならば、ソフトウェアはそれを前の測定値と比較し、光学焦点からの変位を計算する。トレーをこの位置まで移動させ、焦点品質が最高となるまでステップが繰り返される。

細胞カウントアルゴリズム

細胞カウントアルゴリズムは像内に存在する細胞の数を決定する。

細胞カウント作業のステップを以下に記述する：

1. 像を取得する。
2. 像のヒストグラムを計算する。
3. しきい値を計算する。理想的にはしきい値は図30に示したようなヒストグラム上の位置に設定される。しきい値を見つけるためには以下のステップが実施される：
 - A. ヒストグラムを平均し、1次導関数を計算する。
 - B. 1次導関数を平均し、2次及び3次導関数を計算する。
 - C. 低から高への強度変化を検索し、2次及び3次導関数の値が0と1の間である強度レベルを見つける。このことにより、突然の変化のヒストグラム空隙上の領域が保証される。

示している。しきい値が最も外側の領域よりも低い値に設定されていると、2つの細胞は単一物体として見える。しきい値を大きくすると、細胞の寸法は減少し、結果的に2つの別個の物体として見える。図31は、しきい値を180～210に設定した場合の2つの細胞を示している。

脱凝集効果を得るため、現在のしきい値を所与の量に増加し、ステップ4～6を実施する。所定の条件が満足されるまで、例えば物体が認められないかまたは反復回数が設定値、例えば5回に等しくなるまで、サイクルを繰り返す。図32は、このプロセスの間に計算された複数のしきい値を示している。

結果検出の説明

本発明の1つの実施形態においては、装置の凝集検出は、CCDカメラを使用し、標準96ウェルマイクロタイタープレートに類似の使い捨てカートリッジの各ウェルの像を得る。この像は、各ウェルごとに少なくとも8×8画素を8レベルグレイスケール表示によって与えるようにデジタル化され、最低でも256グレイレベルを有する30×30画素アレーが推奨されるが、256またはそれ以上の分解能を有する512×484画素アレーを使用すること

D. ステップCで見つけた強度レベルから出発し、高から低への強度変化を検索し、3次導関数が負値から正値に変化する強度レベルを見つける。この値がしきい値であり、バックグラウンドとフォアグラウンドとの境界を示す。

4. 像のしきい値以上の値を有する画素を走査する。画素が認められたならば、エッジ追跡アルゴリズムを用いて物体の輪郭を描く。物体の面積を計算する。

5. 物体の面積を、細胞面積の上限及び下限と比較する。物体の面積が範囲内にあるならば、それを細胞として分類し、数から取り出す。

6. ステップ4及び5を、像内の全ての画素が走査されるまで繰り返す。

7. 上限面積を越えた物体は実際には密接している複数の細胞であり得、従って考慮する必要がある。かかる物体を見極めるため、脱凝集(de-clumping)または分解アルゴリズムが開発された。細胞は、周縁から中心に向かって正の強度勾配を有し、従って細胞の中央部は縁部よりも明るく見える。図31は、しきい値を153以下とした場合の2つの細胞の典型的なグレイスケール分布を

もできる。かかる像を図33のA～Eに示す。図33Aは強陰性、図33Bは弱陰性、図33Cは弱陽性、図33Dは陽性、図33Eは強陽性の反応である。

デジタル化表示は、強度データの少なくとも1つの横断面図を得(横断面が1つだけであるならばそれは中心を通る必要がある)、必要によってはノイズを排除するために低域フィルタを使用し、リム情報を除去するために単純データ置換法を使用することにより分析される。このリム補正は単に、前校正位置によってリムデータではないがリムに近いことが判っているデータを取り、この値を、化学反応の結果によって生じたのではない強度遷移に拡張することからなる。このように処理された強度を図34の上段のグラフに示す。ここで、X軸は画素位置情報であり、Y軸はグレイスケール強度である。

強度のみに基づいてパターン認識及び像分類を実施することは可能であるが、この方法には、高度の位置再現性が要求されることや、細胞濃度及びピペット添加量の非一貫性、光源の変動、並びに反応時間によって変化する強度及び幾何学的変化を含む幾つかの短所がある。

上記理由により、強度の導関数を求め、それを、かかる

反応の分類及び評価の一次手段とする。導関数を図34の下段のグラフに示す。かかる導関数の強陰性から強陽性への導関数減少値に留意されたい。勾配和 (slope total) と称される各ウェルの導関数の負及び正のピークの絶対値の和をとることにより、各ウェルの中央の“ボタン状部”、このボタン状部を取り巻く“ハロ部”及びバックグラウンドの相対的な“鮮鋭度”に関係する数値が、絶対強度値とは無関係に生成される。この方法は、熟練実験技術者の読取り及び評価方法のエキスパートシステムモデルとして開発された。

最も重要な評価作業は、弱陰性Bと弱陽性Aとを識別することである。中央強度値は同様であるが、ボタン状部、ハロ部及びバックグラウンドの遷移は、絶対強度よりは導関数による勾配情報を使用してより容易に分類可能である。

勾配和及び中央強度の典型的な値を以下に示す。各群における勾配和及び中央強度の範囲は約 ± 10 単位である。

群	勾配和 (0~100)	中央 (0~255)	群点 (0~4)
A 強陰性	70	40	0
B 弱陰性	50	40	1
C 弱陽性	80	40	2
D 陽性	20	55	3
E 強陽性	10	70	4

± 10 範囲を含む上記値から判るように、勾配和情報のみに基づく評価アルゴリズムは、強陰性、弱陰性及び弱陽性の間で重複することなく区別可能であり、

強陰性 = 勾配和 > 60

弱陰性 = $40 < \text{勾配和} < 60$

陽性 = 勾配和 < 40

となる。

しかしながら、勾配和のみを使用して弱陽性、陽性及び強陽性を区別すると、 ± 10 の範囲で不明確な評価となり得る。必要によっては、中央値によって陽性をより容易に分類することができる：

弱陽性 = 勾配和 < 40 且つ中央値 < 50

陽性 = 勾配和 < 30 且つ $50 < \text{中央値} < 62$

強陽性 = 勾配和 > 20 且つ中央値 > 62

実際のカットオフ値は、予め保存されている統計情報もしくはは内蔵校正ウェルまたはこれらの両方によって設定することができる。勾配和及び中央値を使用して評価するために線形回帰法を使用することもできるし、実験ごとの変動及び反応時間を内蔵コントロールを用いて調査することもできる。主判別ツールとして勾配和を使用することにより、強度のみに基づく方法には見られないしっかりとした信頼性のある検出環境が可能であるので、上記評価用パラメータを使用してニューラルネット (Neural nets) を構築することもできる。

本発明装置の動作

本発明の装置の動作をH1A型判定において説明する。作業員はまず公知の方法 (例えばFicoll Hypaque method) によって問題の細胞を単離する。反応カートリッジ10には通常試薬が凍結乾燥状態で備えられているので、作業員はカートリッジ10を溶かす。カートリッジ10は、アッセイタイプ及び他の情報を含む予め印刷されたバーコードを有するのが好ましい。次いで作

業員は、マイクロコンピュータのキーボードを使用して患者情報をタイプ入力することにより患者データをログインする。

作業員は、ピペットによって分注するために常磁性ビーズ及び発光団をカートリッジ10のウェル12内に入れる。次いで、 $50 \mu\text{l}$ の試料細胞が試料ウェル11a、11bまたは両方に作業員によって手作業で入れられる。次いで作業員はカートリッジ10を自動化装置のロード域30内にロードする。ピペットロボット34がカートリッジ10を回収し、更にそれを、予め印刷されているカートリッジバーコード上の情報を読み取るためにバーコードリーダーまで移動させる。

ピペットロボット34はカートリッジ10を輸送し、それをピペット下に置く。そうするとピペットはウェル12から $50 \mu\text{l}$ の常磁性ビーズ及び緑色発光団をとって試料ウェルに加える。適当な緑色発光団は表1に示した5, 6カルボキシフルオレセインである。次いで混合液は、インキュベーション域38において、インキュベータ周囲温度 $34^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ で10分間インキュベートされる。ピペットロボット34はカートリッジ10を回収し、更にそ

れをビベットまで移動させる。

次に、常磁性ビーズに付着した細胞を保持するために、希土類磁石 (Permag, IL) のような磁石が試料ウェル近傍に置かれる。そうして、未結合の細胞を洗い流すために試料ウェル11a及び11bが洗浄される。試料ウェル11a及び11bの各々から70 μ lが廃棄ブロック中に吸引され、更に同容量の70 μ lの緩衝液が試料ウェル11a及び11bに加えられ、この洗浄ステップが3〜4回繰り返され、終容量100 μ lが得られる。

次いで磁石が取り除かれ、細胞は試料ウェル11a及び11b内で再懸濁及び混合される。0.5 μ lの細胞が、カートリッジ10の反応ウェル16の1つにビベットで添加される。CCDを使用し490nmにおいて読み取ることにより、この反応ウェルにおける細胞がカウントされる。細胞数が不適当である場合は作業員に信号が与えられ、カートリッジは拒否される。細胞数が多すぎる場合は、細胞数を推定し、再試行する必要がある。

細胞数が適当であったかまたは細胞数が希釈されたならば、0.5 μ lの細胞が各反応ウェル16中に分注される。次いでカートリッジ10は、34 $^{\circ}$ C \pm 2 $^{\circ}$ Cのインキュ

ベータ域38に約30分間移される。480 μ lの緩衝液を含む再水和補助試薬/赤色発光光団混合液がビベットに与えられる。適当な赤色発光光団は表1に示したヨウ化プロビジウムである。カートリッジ10がビベットまで移動されると、ビベットは反応ウェル16ごとに3 μ lの補助試薬を分注する。全ての反応ウェル16が完了すると、カートリッジ10はインキュベータ域38に移され、分析中の試料に応じて30〜45分間インキュベートされる。必要によっては、ビベットは反応ウェル16ごとに50 μ lの緩衝液を分注することができる。次いでカートリッジ10はイメージロボット40によって回収され、各ウェルは490nm/540nmにおいて検出され、結果及び/或が保存される。試料が検出された後(細胞がカウントされ、評価された後)、カートリッジ10はアンロード域46に移され、そこで作業員によって手作業でアンロードされる。

実施例

本発明の装置及び方法の使用をより明確に説明するために以下の実施例を与える。

実施例1 像分析のための補助試薬依存性小リンパ球毒性

を使用する2色蛍光によるHLA型判定

図1を参照すると、ウェル11a及び11bは、HLA型判定を実施すべき白血球懸濁液を保持するための容器を指す。リンパ球精製は、公開方法(Vartdal F. et al., Tissue Antigen 1986: 28: 30-1312)に従ってCD2またはCD8モノクローナル抗体に結合させた常磁性粒子(Advanced Magnetics Inc. (Cambridge, MA) から購入、商標BIOMEG)を使用して行なった。クラスII型判定に対しては、L243のようなモノクローナル抗体を、Advanced Magnetics Inc. (Cambridge, MA) から購入される同様の常磁性粒子に結合することもできる。最初に精製リンパ球懸濁液を2つの試料ウェル11aまたは11bの一方に手作業でロードした後は、後述の全てのステップは本発明装置によって制御される。カートリッジ10には、型判定用血清、常磁性粒子及び5,6カルボキシフルオレセインジアセテート(Sigma, MO)混合液、クラスIまたはII HLA型判定を実施するのに必要な凍結乾燥補助試薬(Pel Freeze, Milwaukee, W

I)及びヨウ化プロビジウム(Sigma, MO)混合液を含む試薬が含まれていた。容量100 μ lの常磁性粒子及び5,6カルボキシフルオレセインジアセテート混合液を100 μ lのリンパ球試料中にビベット添加した。室温で10分間インキュベートした後、ウェルの下側を希土類(Permag, IL)磁石に15秒間当接することにより、染色されロゼット化した細胞を未結合の白血球から分離した。次いで、ロゼット化細胞を、前述の磁性装置によって適所に維持しながら、それぞれ300 μ lの1 TDX(登録商標)緩衝液(Abbott Labs, IL)で3回洗浄した。最低0.5 μ lのロゼット化白血球が、2.5 μ lの抽出中に沈められた0.5 μ l以上のHLA型判定血清を含む反応ウェル16内にビベット添加された。30分間のインキュベーションの終了後、2mg/mlのヨウ化プロビジウムを含む最低3 μ lのウサギ血清(補助試薬)が各反応ウェル16に加えられた。室温で30分間インキュベートする反応が実施された。リンパ球溶解(Lympholysis)の程度が変化することで陽性反応が示された。5,6 CDF染色細胞は、励起(450〜490nm)及び発光(520〜560nm)フィルタセッ

ト(Nikon, 日本)のもとに撮像され、一方、PI染色細胞は、励起(510~560nm)及び発光(590nm)フィルタセットを使用して観察することができた。

実施例2 生検材料または組織断片における生化学マーカーのための組織細胞の免疫細胞化学染色

別のアッセイにおいては、イムノペルオキシダーゼ細胞化学法を用いる正常及び異常乳腺組織におけるヒトエストロゲンレセプター発現を使用した。組織を採取し、Abbott-ER-ICA Monoclonal Assay (Abbott Labs, Abbott Park, IL)に従ってイムノペルオキシダーゼ反応を使用して調製した。有意な量のエストロゲンレセプターを含まない細胞の核は淡青色を示すはずであり、これに対して、エストロゲンレセプター発現が高まっている腫瘍細胞は赤褐色に見えるはずであった。この方法の適用は、DNA/RNAプローブを使用する現場ハイブリダイゼーション法、または種々の同位体、化学色素、免疫反応もしくは酵素/基質の組合せを含む他の免疫染色法と併用し、他の組織または細胞生化学マーカーに拡張することができる。生化学マーカーとしては、タンパク質、炭水化物、脂質、またはこ

れらの任意の組合せを挙げることができる。検体は、血液塗抹；生検材料または細胞塗抹；または化学固定、凍結もしくは標準方法に従うパラフィン切断法によって調製される組織断片のいずれかであり得る。

実施例3 被分析物質判定の前面イムノアッセイ

以下に詳述するように、本発明の著しく有利な点は、種々のタイプのアッセイを実施するよう装置を改善し得ることである。例えば本発明の装置及び方法は、蛍光または比色イムノアッセイの精度及び感受性を増強するために使用することができる。異なるアッセイタイプの1例においては、反応は96ウェルマイクロタイターカートリッジ (Abbott Labs, Abbott Parks, IL) において実施される。試薬混合、インキュベーション及びシグナル生成は反応ウェル内で行われる。試料反応においては、常磁性粒子を当業者には周知の方法によってマウスIgGで被覆する。マウスIgGを検出するためには、βガラクトシダーゼで標識されたヤギ抗マウスが使用される。反応を開始するため、50μlのマウスIgG被覆常磁性粒子を同容量のヤギ抗マウス-βガラクトシダーゼ複合体と反応ウェル内で室温で20分間混合する。常磁性粒子は

磁石を用いて適所に保持しておき、未結合のヤギ抗マウス-βガラクトシダーゼ複合体を、全部で500μlのTDX (登録商標) 緩衝液 (Abbott Labs, Abbott Park) を用いて洗い流した。容量50μlの発光性物質、例えばジーβ-ガラクトシルフルオロセイン (Sigma, MO) を液子に加える。蛍光強度または吸収変化を、上述の被分析装置によってモニタすることができる。

実施例4 凝集によるB型肝炎表面抗原の検出

試薬と96反応ウェルV底凝集プレートとを含む、Abbott Laboratories, North Chicago, Illinois 60064販売のAbbott Auscell (登録商標) キットを使用し、与えられた手順に従って凝集アッセイを実施した。Abbott Auscell (登録商標) キットの手順は参照により本明細書の一部を構成するものとし、これは、B型肝炎表面抗原検出用逆受身血球凝集のためのものである。凍結乾燥された抗体-感作硬膜細胞 (sensitized erythrocyte cells) を再構成溶液を用いて再構成した。25μlの検体希釈緩衝液を各反応ウェルに

加えた。2μlの試験血清を適当なウェルに加えた。次いで、25μlの抗体-感作硬膜細胞を各反応ウェルに加えた。プレートまたはカートリッジトレイの側面を軽くたたくことにより反応ウェル内の反応物質を混合し、プレートを振動させずに2時間インキュベートしてから、本発明に使用される装置を使用して読取った。

要約改良

本発明の装置及び方法は従来の装置よりも著しい利点を与える。かかる利点の一部は上記説明のなかに記述されている。ここに詳述する別の著しい利点は、種々のアッセイを実施するための装置の拡張性と、装置が種々のアッセイを実施するように改良するために行われるべき変更が最小限であることとにある。

上述したように、試料調製の特異性及び他の例外事項によって、全てではないがほとんどの入手可能な系の有用性は制限されている。なぜならば、かかる系には、その多様性を受容するためには大幅なハードウェアの設計変更が必要であるからである。更に、入手可能な自動化アッセイ装置は、単一種類のアッセイに専用である。ここでも、当初意図された以外のアッセイを実施するためには、装置を改

良すべくハードウェアの大幅な設計変更が必要とされる。

本発明の装置は、上記制限を持たない構成を提供する。本発明の装置及び方法は、アッセイ試験における多様性を受容するためまたは種々のアッセイを実施するために容易に再構成することができる。変更は単に、光学フィルタ及び対物レンズを交換する、並びに／または微処理アルゴリズムを変更することと、他の若干の変更とが必要だけである。現場改良を行なう前に、アルゴリズムを開発し、適当なフィルタ及び対物レンズを選択することができる。現場で改良を行う人間が多大な努力をせずとも、かかる変更または改良が現場で実施され得ることが理解されよう。

アッセイステップは自動的に実施されるので、有意な量の作業員の時間が削減される。本発明の装置を使用して行われたHPLAアッセイにより作業員は、手作業でステップを実施するのに要する時間の63%～80%の時間を節約することができる。

該装置におけるリーダは、蛍光、凝集、吸収及び化学ルミネセンスアッセイを読取るように構成することができる。また、細胞形態を決定することもできる。他のアッセイは、より高い分解能並びにより優れた感受性及び安定性を要求

することもできる。このことは、異なるコンピュータハードウェア及び場合によってはより長い処理時間を必要とする別のカメラを用いて解決され得る。

上述の好ましい実施態様の記述は説明を目的としたものである。これらは本発明を網羅するものでもないし、また本発明をここに開示した形態に制限するものでもない。本発明の範囲は、全ての等価物を含む以下の請求の範囲によってのみ限定される。

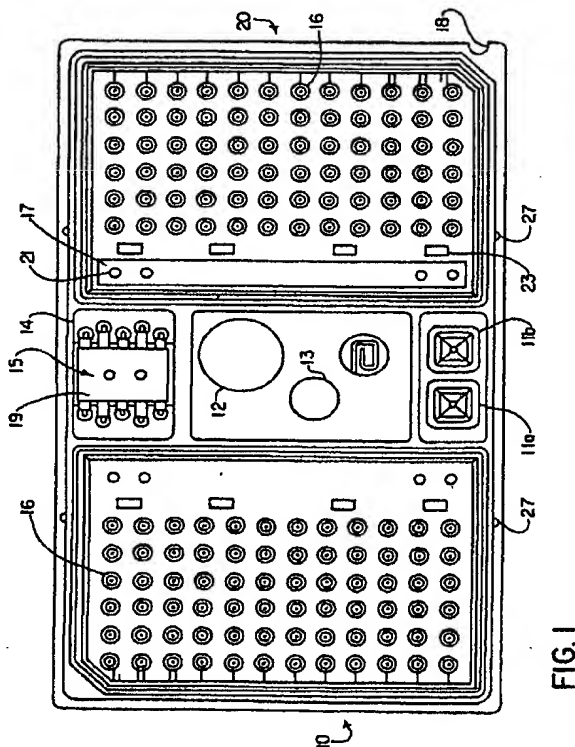


FIG. 1

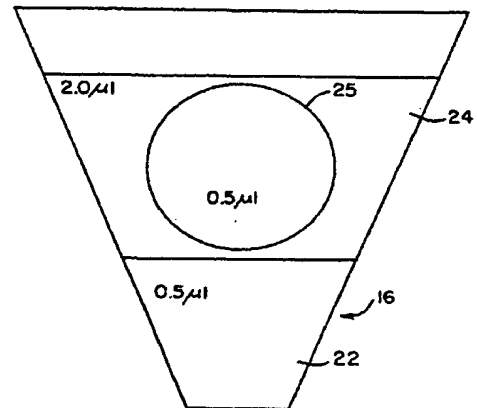


FIG. 2

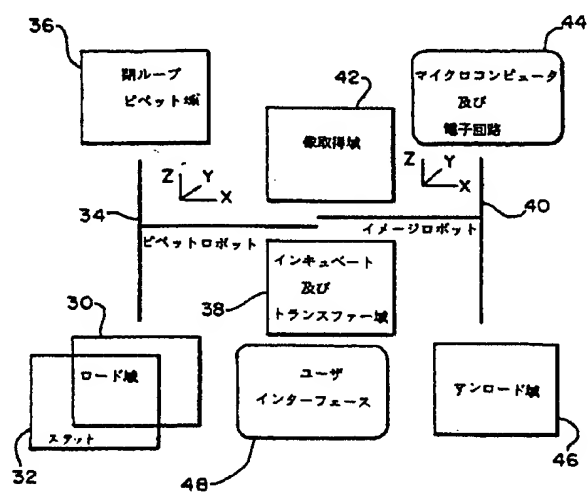


FIG. 3

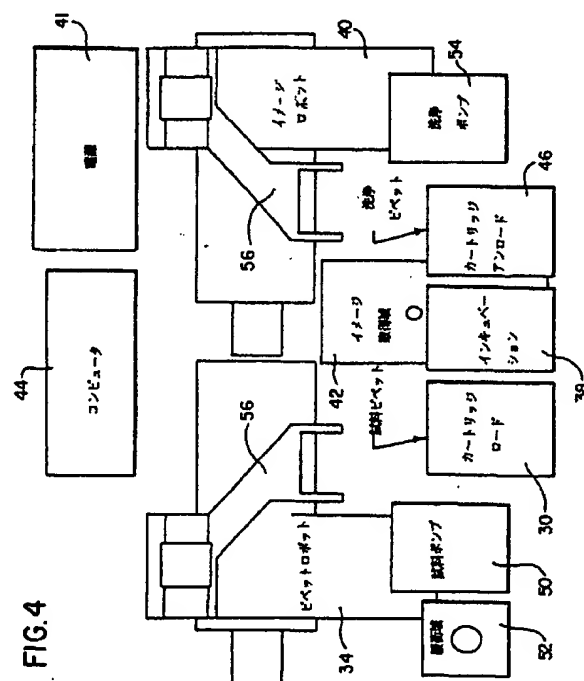


FIG. 4

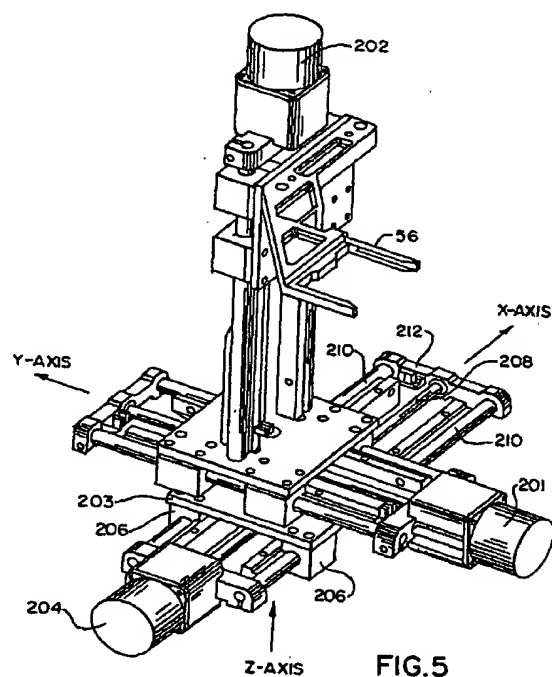


FIG. 5

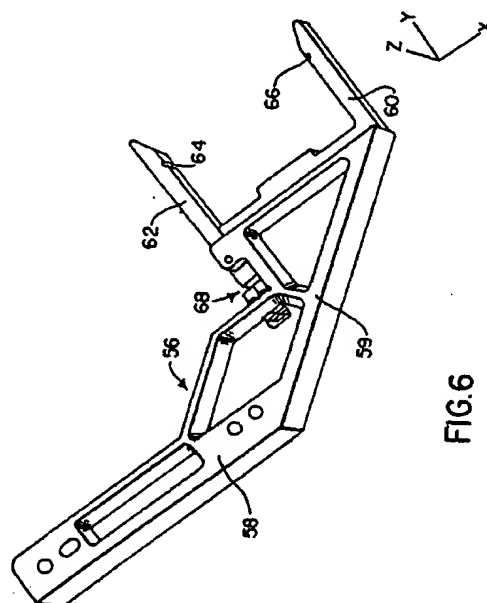
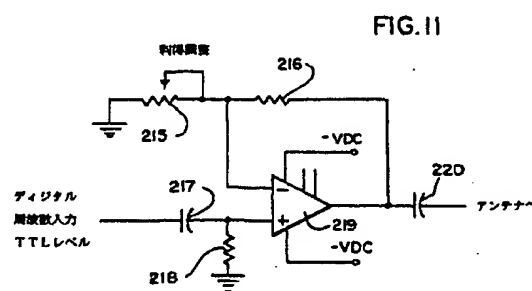
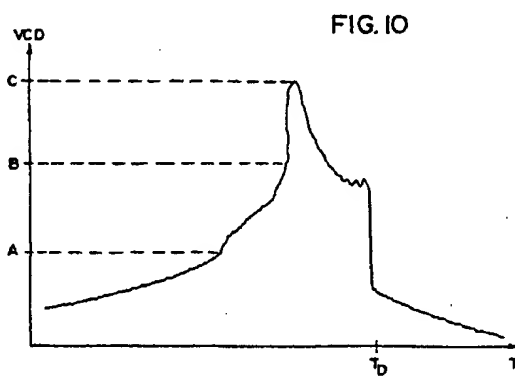
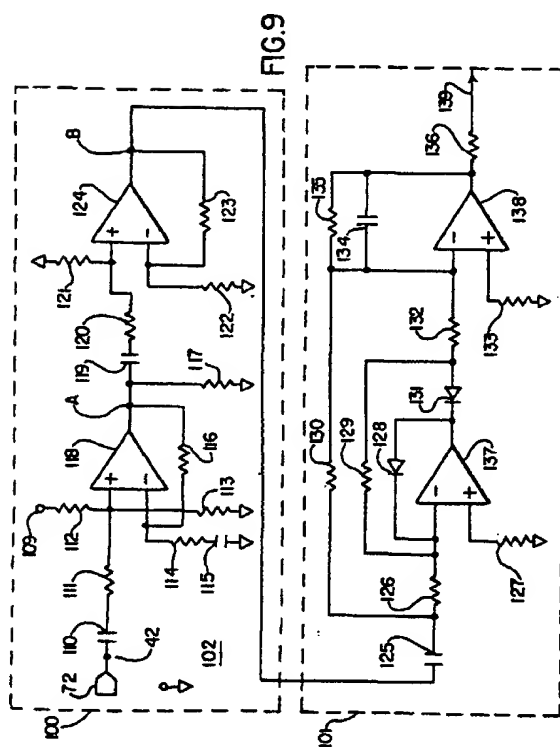
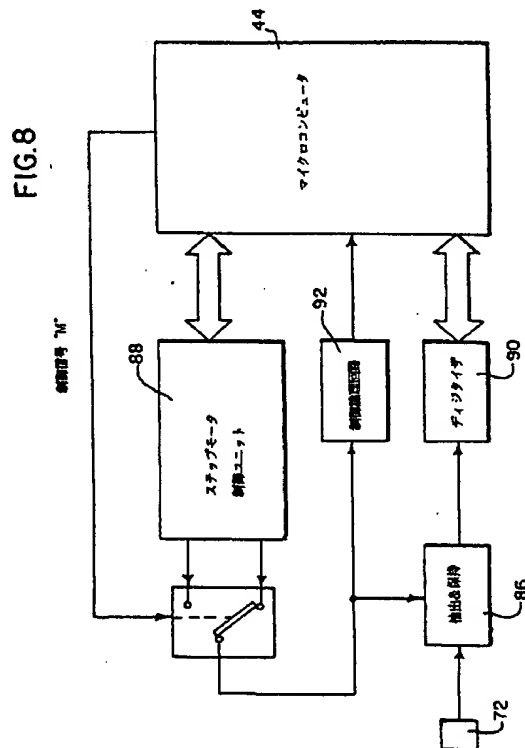
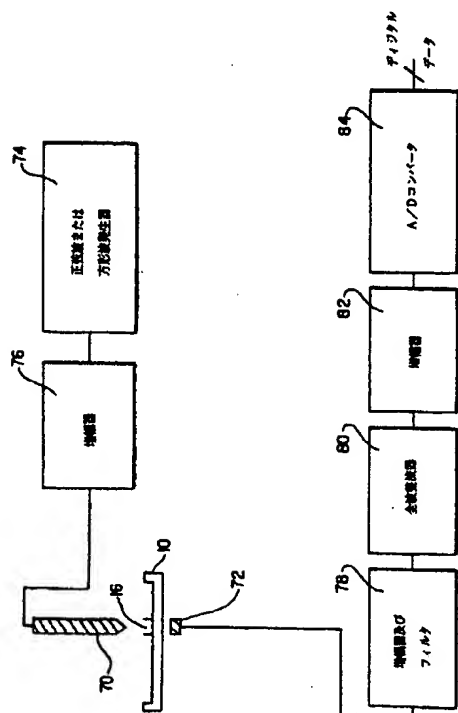


FIG. 6



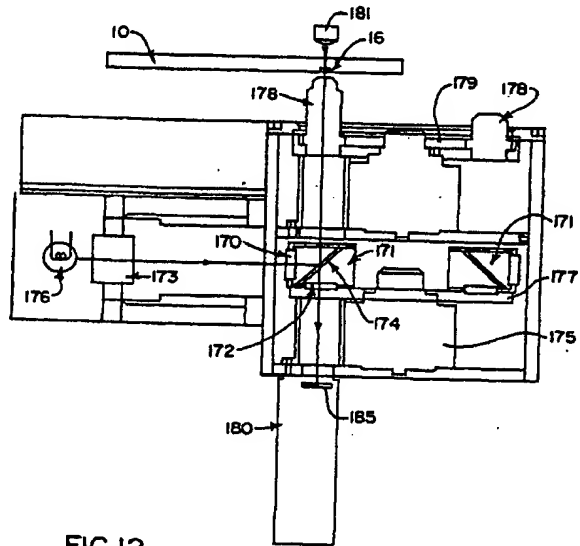


FIG. 12

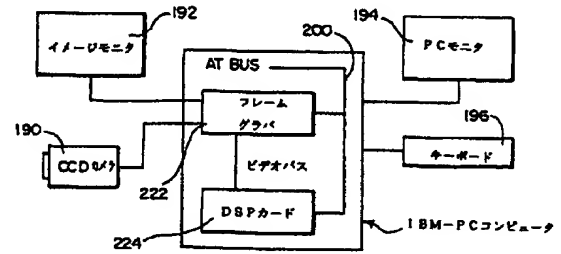


FIG. 13

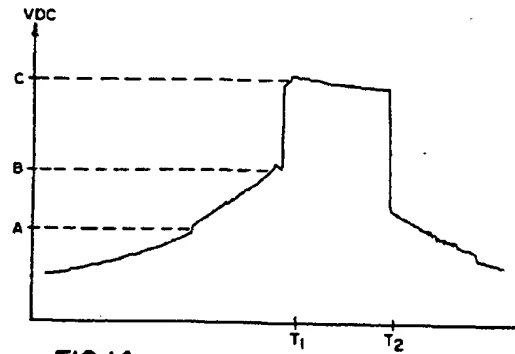


FIG. 14

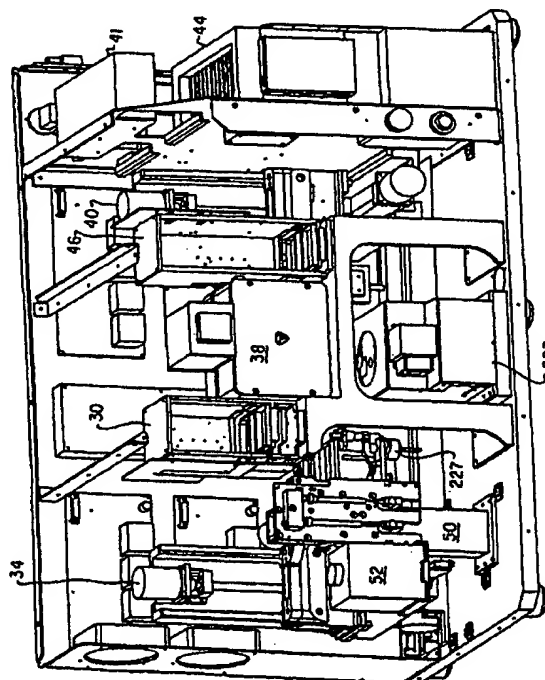


FIG. 15

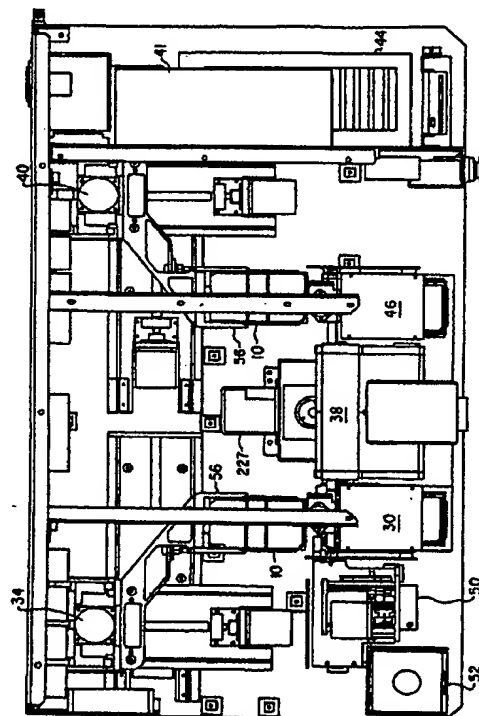


FIG. 16

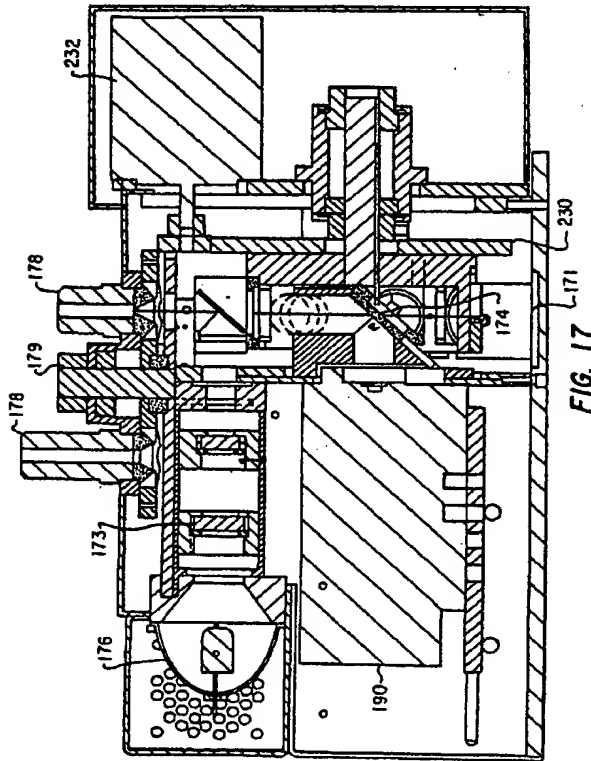


FIG. 17

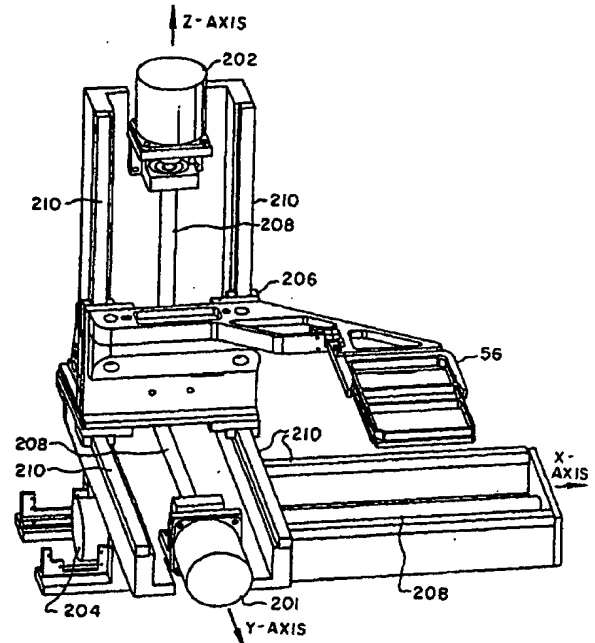


FIG. 18

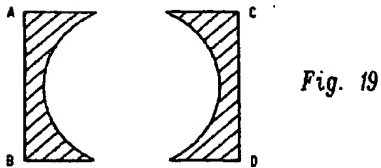


Fig. 19

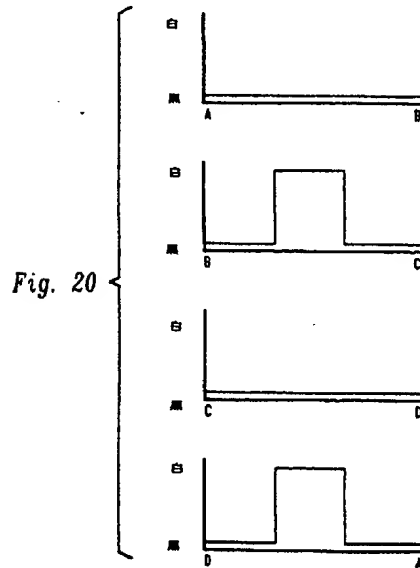


Fig. 20

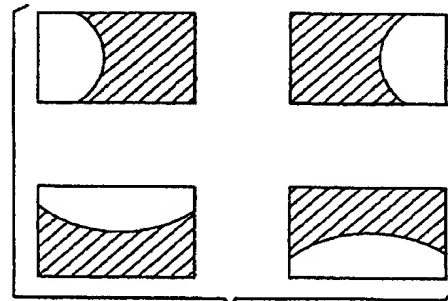


Fig. 21

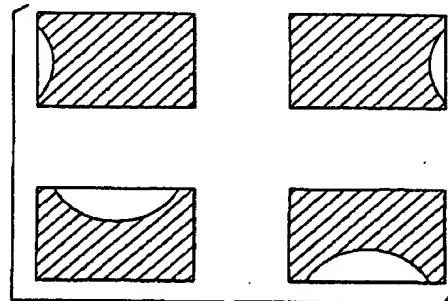


Fig. 22

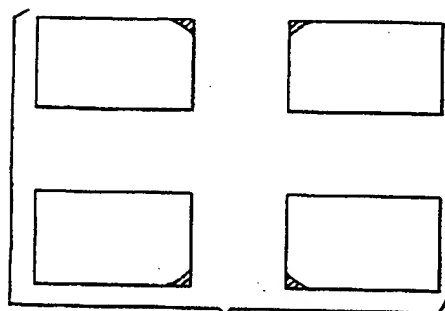


Fig. 23

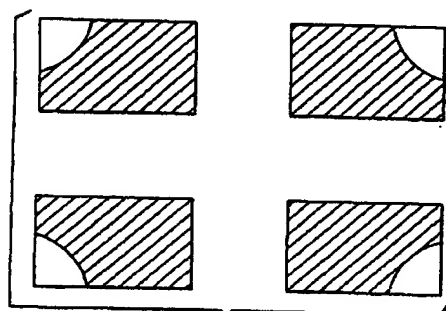


Fig. 24

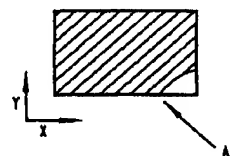


Fig. 25

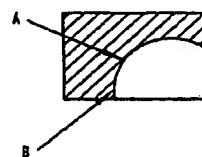


Fig. 26

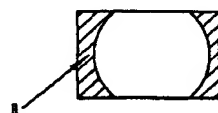


Fig. 27

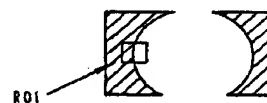


Fig. 28

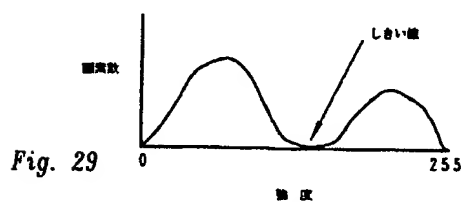


Fig. 29

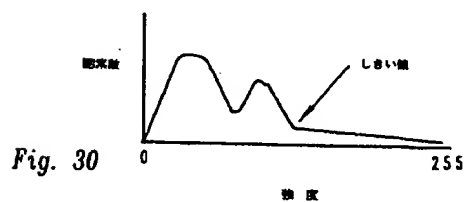


Fig. 30

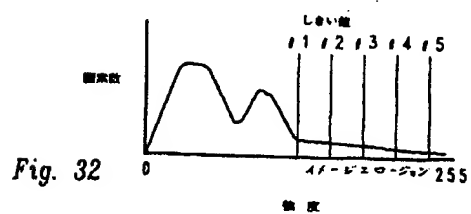


Fig. 32

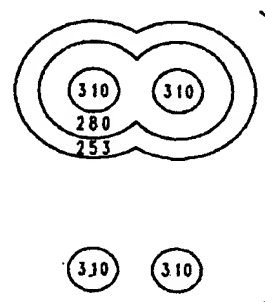
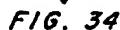
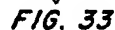


Fig. 31

International application No.
PCT/US92/05103



INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCT/US93/051403
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (IPC) : 0001N 2102 US CL : 42/80, 42, 67, CL, 100, 435/426 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. PAGES SEARCHED Multination: SEARCHED/SEARCHED (multination system followed by classification symbols) U.S. : 732928, 30AC, 43/007, 43, 67, 100, 432, 435/43, 67, 43, 328		
Documentation received after this previous documentation to the extent that such documents are included in the fields provided		
Electronic data bank searched during the international search phase of this case and, where appropriate, search terms used A.P.S. search terms: NLA, (data, Suppl., invent., methods, computer, et. media frequency)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passage	Reference to claim No.
Y	Chemical Chemistry, vol. 24, issued 1988, M. Flum et al., "The Alkali (Mg) Antineutron Secondary (neutronium) Analytic System", pages 1726-1732, entire document.	1-17
Y	SP. A. 0,336,944 (Lau et al.) 21 March 1990, no entire document.	9-11
Y	US. A. 3,583,333 (Gleichen) 8 June 1971, no entire document.	9-11
Y	US. A. 4,431,397 (Gleichen) 14 February 1986, no entire document.	1-11
Y	US. A. 4,922,409 (Gleichen) 12 May 1990, no entire document.	1-11
Y	US. A. 4,999,319 (Turnwald et al.) 09 July 1996, no entire document.	1-11
Y,P	US. A. 5,041,266 (Pao) 30 August 1991, no entire document.	1-11
A	US. A. 4,310,688 (Gleichen et al.) 09 March 1982.	1-11
A	US. A. 4,636,921 (Gleichen et al.) 28 June 1989.	1-11
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are cited in the examination of this C. <input type="checkbox"/> See parent family names.		
* Basic categories of cited documents: "X" documents published the present state of the art and are not considered as prior art for purposes of novelty. "Y" documents which are cited for the international filing date. "Y,P" documents which are cited to show novelty or inventive step or which are cited to show the state of the art of the invention or which are cited to show the state of the art of the invention. "P" documents published prior to the international filing date but have not yet been published. "A" documents published prior to the international filing date but have not yet been published.		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
06 September 1992		17 SEP 1992
Name and mailing address of the ISA/ Copyright International B. 00221 Paris/US. NOT APPLICABLE		Authorized officer ARLEN FODORQUIST Telephone No. 7921 208 4196

C (Continued). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		Supplemental Application No. PCT/GB95/0109
Category*	Character of document, with indication, where appropriate, of the relevant passage	Reference to claim No.
A, E	US. A. 5,122,342 (McCollum et al.) 16 June 1992, non written document.	1-11
A	US. A. 4,727,922 (McGraw et al.) 23 February 1988.	1-11
A	EP. A. 0,312,663 (Wige et al.) 04 March 1987.	1-11

フロントページの続き

- (72)発明者 ウイルソン、トーマス・ジエイ
アメリカ合衆国、イリノイ・60002、アン
デイオク、ノース・ライラック・プレイ
ス・40538
- (72)発明者 アルスバーグ、キース・デイ
アメリカ合衆国、ミズーリ・63130、セン
ト・ルイス、ギャノン・7732

- (72)発明者 マツコイ、ジミー・デイ
アメリカ合衆国、テキサス・76248、ケラ
ー、リッチモンド・レーン・711
- (72)発明者 セベスタ、エズワード・イー
アメリカ合衆国、イリノイ・60083、ワズ
ワース、ノース・ハント・クラブ・ロー
ド・42200

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平5-26881

(43)公開日 平成5年(1993)2月2日

(51)Int.Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 1 N 35/02	C	8310-2 J		
35/00	A	8310-2 J		
G 0 6 F 15/20	N	7218-5 L		

審査請求 未請求 請求項の数19(全 15 頁)

(21)出願番号 特願平3-181092

(22)出願日 平成3年(1991)7月22日

(71)出願人 000005108

株式会社日立製作所

東京都千代田区神田駿河台四丁目6番地

(72)発明者 浅井 英規

茨城県勝田市市毛882番地 株式会社日立

製作所那珂工場内

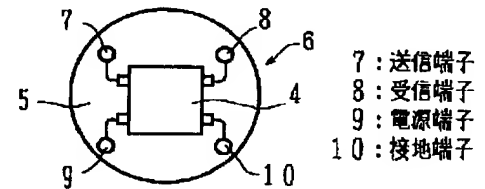
(74)代理人 弁理士 春日 譲

(54)【発明の名称】 分析装置の試薬及びサンプルの I D 装置、分析装置の情報書き込み読出し装置、自動試薬注入検査装置、及び自動サンプル注入装置

(57)【要約】

【目的】 分析装置のサンプル及び試薬に関する情報を蓄える I D 装置であり、微小なスペース取付け可能で、且つ読み書きできる情報量が多く、更に自動的に情報の読み書きや取り付けができる I D 装置、これを利用した分析装置の情報書き込み読出し装置を実現する。

【構成】 分析装置に用いる試薬及びサンプルの I D 装置として、半導体装置で形成された記憶素子を基板に取り付けたものである。基板には送信端子、受信端子、電源端子、接地端子が設けられ、これらの端子によって外部から電源の供給を行うと共に、外部と通信手段により I D 情報の読み書きを行うように構成される。電源供給手段と通信手段については、電気的手段、光学的手段、磁気的手段が利用される。また電池も利用され、前記電源供給手段と併用される。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 分析装置の試薬容器とサンプル容器の少なくともいずれかに取り付け、試薬及びサンプルのそれぞれの各種情報を記憶させて用いる試薬及びサンプルのID装置であり、このID装置は、前記情報を格納する記憶手段と、この記憶手段と外部装置との間でデータの入出力を行う通信制御手段と、前記外部装置との間のデータの入出力のための接続手段を含み、半導体装置で形成される電氣的装置であることを特徴とする分析装置の試薬及びサンプルのID装置。

【請求項2】 請求項1記載の分析装置の試薬及びサンプルのID装置において、前記記憶装置は、前記外部装置として設けられた電氣的手段によって、その記憶内容を読み書きされることを特徴とする分析装置の試薬及びサンプルのID装置。

【請求項3】 請求項1記載の分析装置の試薬及びサンプルのID装置において、前記記憶素子にデータを入出力するための前記接続手段は、電氣的接続手段であることを特徴とする分析装置の試薬及びサンプルのID装置。

【請求項4】 請求項1記載の分析装置の試薬及びサンプルのID装置において、前記記憶素子にデータを入出力するための前記接続手段は、光学的接続手段であることを特徴とする分析装置の試薬及びサンプルのID装置。

【請求項5】 請求項1記載の分析装置の試薬及びサンプルのID装置において、前記記憶素子にデータを入出力するための前記接続手段は、磁氣的接続手段であることを特徴とする分析装置の試薬及びサンプルのID装置。

【請求項6】 請求項1～5のいずれか1項に記載の分析装置の試薬及びサンプルのID装置において、前記電氣的装置に電源を供給する手段を、外部からの電氣的接続により構成したことを特徴とする分析装置の試薬及びサンプルのID装置。

【請求項7】 請求項1～5のいずれか1項に記載の分析装置の試薬及びサンプルのID装置において、前記電氣的装置に電源を供給する手段を、外部からの光学的接続により構成したことを特徴とする分析装置の試薬及びサンプルのID装置。

【請求項8】 請求項1～5のいずれか1項に記載の分析装置の試薬及びサンプルのID装置において、前記電氣的装置に電源を供給する手段を、外部からの磁氣的接続により構成したことを特徴とする分析装置の試薬及びサンプルのID装置。

【請求項9】 請求項1～5のいずれか1項に記載の分析装置の試薬及びサンプルのID装置において、前記電氣的装置に電源を供給する手段に、ID装置と試薬容器又はサンプル容器とのうちのいずれかに取り付けられた電池を用いたことを特徴とする分析装置の試薬及びサン

ブルのID装置。

【請求項10】 請求項1～5のいずれか1項に記載の分析装置の試薬及びサンプルのID装置において、前記電氣的装置に電源を供給する手段に、外部より電氣的接続により供給する手段と、ID装置と試薬容器又はサンプル容器とのうちのいずれかに取り付けられた電池とを併用したことを特徴とする分析装置の試薬及びサンプルのID装置。

【請求項11】 請求項1～5のいずれか1項に記載の分析装置の試薬及びサンプルのID装置において、前記電氣的装置に電源を供給する手段に、外部より光学的接続により供給する手段と、ID装置と試薬容器又はサンプル容器とのうちのいずれかに取り付けられた電池とを併用したことを特徴とする分析装置の試薬及びサンプルのID装置。

【請求項12】 請求項1～5のいずれか1項に記載の分析装置の試薬及びサンプルのID装置において、前記電氣的装置に電源を供給する手段に、外部より磁氣的接続により供給する手段と、ID装置と試薬容器又はサンプル容器とのうちのいずれかに取り付けられた電池とを併用したことを特徴とする分析装置の試薬及びサンプルのID装置。

【請求項13】 請求項9～12のいずれか1項に記載の分析装置の試薬及びサンプルのID装置において、電源用の前記電池として充電式の電池を用いたことを特徴とする分析装置の試薬及びサンプルのID装置。

【請求項14】 請求項1～13のいずれか1項に記載の分析装置の試薬及びサンプルのID装置を、情報格納手段として備えることを特徴とする分析装置の試薬用又はサンプル用の容器。

【請求項15】 請求項14に記載された分析装置の試薬用又はサンプル用の容器を複数利用し、且つ前記容器のそれぞれに対して各々の前記ID装置にデータを書き込み又は読み出す入出力装置を備えることを特徴とする分析装置の情報書込み読出し装置。

【請求項16】 請求項14に記載された試薬容器に自動的に試薬を検査して注入するか、又は試薬注入後に自動的に試薬の検査を行う自動試薬注入検査装置であり、試薬を自動的に検査して得られたロット毎のばらつきや各種パラメータのデータを、即座に、予め前記試薬容器に取り付けられた試薬の前記ID素子に書き込む手段を備えたことを特徴とする自動試薬注入検査装置。

【請求項17】 試薬容器に自動的に試薬を検査して注入するか、又は試薬注入後に自動的に試薬の検査を行う自動試薬注入検査装置であり、試薬を自動的に検査して得られたロット毎のばらつきや各種パラメータのデータを、即座に、別に用意した試薬の請求項1～13に記載されたID装置に書き込む手段と、データ書き込まれた前記ID装置を自動的に対応する前記試薬容器に取り付ける手段を備えたことを特徴とする自動試薬注入検査装

置。

【請求項18】 請求項14に記載されたサンプル容器に自動的にサンプルを注入する自動サンプル注入装置であり、予め前記サンプル容器に取り付けられたサンプルの前記ID素子にサンプル情報を書き込む手段を備えたことを特徴とする自動サンプル注入装置。

【請求項19】 サンプル容器に自動的にサンプルを注入する自動サンプル注入装置であり、情報を別に用意した請求項1～13のいずれかに記載されたにサンプル用ID装置に書き込む手段と、サンプル情報を書き込まれた前記ID装置を自動的に対応するサンプル容器に取り付ける手段を備えたことを特徴とする自動サンプル注入装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は分析装置の試薬及びサンプルのID装置及び分析装置の情報書き込み読み出し装置に係り、特に、分析装置に用いる試薬又はサンプルの各容器に取り付けられる小型のID装置、及びこのID装置を利用し、このID装置に試薬又はサンプルに関する大量のデータを読み書きでき、分析操作において各試薬及び各サンプルにつき大量のデータを処理できる分析装置の試薬及びサンプルの情報書き込み読み出し装置に関する。

【0002】

【従来の技術】従来の分析装置では、バーコードを、試薬及びサンプルのID手段として用いていた。この方法によれば、バーコードに記入できる情報は多くとも十数桁程度であり、記入する情報が制限される。従ってバーコードには、普通は単純な番号のみを記入し、分析項目、分析方法、検体区別などのデータは分析装置に予め入力していた。

【0003】従来の自動分析装置における試薬又はサンプルに関し情報をやり取りできる類似した装置としては、例えば特開昭58-82164号公報と特開昭62-226058号公報に開示される技術を挙げることができる。

【0004】特開昭58-82164号による自動化学分析装置における検体情報認識機構では、サンプルカップの例えば底部に環状識別標識を取付け、当該サンプルカップに収容されたサンプルの患者名を環状識別標識に表示し、他方、この環状識別標識を読み取る構成を有する。

【0005】また特開昭62-226058号による自動分析装置用カセットでは、複数の検体を収容するカセットと、外部との間で、無線通信手段を用いて所要の情報伝達を可能にする構成を開示している。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】バーコードラベルを利用した従来の試薬及びサンプルのID手段は、次のような問題を有する。すなわち、記入できる情報が少なく、

不便である。また分析対象となるサンプルの量は年々微量化し、これに伴いサンプル容器も小形化し、バーコードラベルを貼りつけられなくなる。その上、バーコードラベルは曲面等の形状の多い試薬やサンプル容器では自動的に貼付けることは非常に困難であった。同時に、バーコードの作成後の変更が、不可能であった。

【0007】また特開昭58-82164号によれば、サンプルカップに環状識別標識を設けているが、この環状識別標識は環状のバーコードであり、前記と同様な問題を有している。

【0008】更に特開昭62-226058号によれば、複数の検体を収容するためのカセットについて、無線通信技術を用いて、外部との間で、情報のやり取りをできる構成を開示しているが、無線通信であるから、装置構成が複雑となり、装置規模も大きくなる。カセットに装着するのであるから、その装置規模の大きさは問題にならない、しかしながら、これを自動分析装置における小型のサンプル容器や試薬容器に用いることは不可能である。

20 【0009】本発明の目的は、微小なスペースで試薬又はサンプルの容器に取り付けることができ、読み書きできる情報量が非常に多く、また自動的に情報の読書きやID装置の取付けが可能で、更に取付け後にも内容を容易に変更できる分析装置の試薬及びサンプルのID装置、分析装置の情報書き込み読み出し装置、更に、自動試薬注入検査装置及び自動サンプル注入装置を提供することにある。

【0010】

30 【課題を解決するための手段】本発明の基本的部分である分析装置の試薬及びサンプルのID装置は、分析装置の試薬容器とサンプル容器のうち少なくともいずれかに取り付け、試薬及びサンプルのそれぞれの各種情報を記憶させて用いる試薬及びサンプルのID装置であり、このID装置は、前記情報を格納する記憶手段と、この記憶手段と外部装置との間でデータの入出力を行う通信制御手段と、外部装置との間のデータの入出力のための接続手段を含み、半導体装置で形成される電気的装置であることを特徴とする。そして、記憶装置は、外部装置として設けられた電気的手段によって、その記憶内容を読み書きされることになる。

40 【0011】また記憶素子にデータを入出力するための前記の接続手段は、好ましくは、電気的接続手段、光学的接続手段、磁氣的接続手段のうちいずれか1つが用いられる。

【0012】また、電気的装置に電源を供給する手段は、好ましくは、電気的接続、光学的接続、氣的接続のいずれかにより、外部から供給されるように構成される。更に電池を用いることも、あるいは、外部からの給電と電池を併用することもできる。

50 【0013】上記のID装置を利用して、これを試薬又

はサンプルの容器に取り付けることができる。更には、ID装置に対し、適時なタイミングで情報を入出力できるように入出力装置を設ければ、全体として分析装置において、多数の試薬及びサンプルのそれぞれの諸情報に関し情報書込み読出し装置を構成することができる。

【0014】

【作用】本発明によるID装置は、半導体装置を利用して形成され、その中に含まれる記憶素子は膨大な記憶容量を有し、数mm角の大きさで数万字の容量を有している。従って、その外見上寸法的には非常に小さいものでありながら、大容量の情報を格納することができ、且つ外部に配置される入出力装置との接続関係で、適時なタイミングで随時に入出力できる。こうして、半導体装置を利用し、記憶素子と通信制御手段等を含む電気回路として形成することによって取り付けが容易になると共に、情報の変更も電氣的、光学的、磁氣的の方法を用いることができ、更に、電気回路の駆動のための電源投入の仕方も、電氣的、光学的、磁氣的の各種の方式を採用することが可能である。

【0015】

【実施例】以下に、本発明の実施例を添付図面に基づいて説明する。

【0016】図1は、本発明に係るID装置を、液体サンプル容器に適用した例である。液体サンプル1は、サンプル容器2に入れられる。サンプル容器2の蓋3は、液体サンプル1がサンプル容器2からこぼれるのを防止する。記憶素子4と基板5からなるID装置6は、サンプル容器3の底部下面3aに例えば接着剤等で取り付けられる。記憶素子4は、後述するように、情報を格納する記憶手段と、この記憶手段と外部装置との間でデータの入出力を行う通信制御手段と、外部装置との間のデータの入出力のための接続手段を含み、半導体装置で形成される電氣的装置である。ID装置6が配設されるサンプル容器3の底部下面3aは、凹所として形成される。ID装置6の取り付け位置は、サンプル容器3の側面の任意箇所にすることもできる。

【0017】図2は、本発明のID装置6の一実施例を示す平面図である。このID装置6は、セラミックや樹脂等のパッケージに封入された記憶素子4と基板5より構成される。基板5には送信端子7、受信端子8、電源端子9、接地端子10が設けられ、それぞれ記憶素子4に接続されている。このID装置6は、前述の通り、サンプル容器2の底部下面3aに取り付けられ、下側から、図示されない通信用プローブと電源用プローブを、送信端子7、受信端子8、電源端子9、接地端子10に当てて電氣的に接続される。通信用プローブと電源用プローブ等の構成については、後述する。

【0018】次に、ID装置6の内部構成及び動作を説明する。図3は、ID装置6の記憶素子4の内部構成を示すブロック図である。記憶素子4の内部は、図示され

るように、通信制御回路11、記憶回路12、発振回路13により構成される。これらの回路11、12、13は、電源端子9より電力を供給されて動作する。情報の書き込み時には、外部より通信用プローブと電源用プローブを、送信端子7、受信端子8、電源端子9、接地端子10にそれぞれ当てて電氣的に接続し、電源を供給して動作状態とする。その後、通信制御回路11、記憶回路12、発振回路13が安定して動作を開始した時点で、外部より受信端子8に記憶命令と記憶すべき情報を入力する。すると通信制御回路11は、この命令を解読して記憶すべき情報を、記憶回路12の指示された場所に格納する。その逆に、情報を読み出す時には、電源を書き込み時と同じ方法によって接続して動作状態とした後、外部より受信端子8に読み出し命令を入力する。その命令を通信制御回路11が解読して、記憶回路12の中から指示された内容を読み出し、送信端子7から外部に送り出す。

【0019】本実施例では、情報の伝送にシリアル伝達方式を使用しているが、多数のビットを同時に伝えるパラレル伝送方式としてもよい。このパラレル方式とすると送信端子7と受信端子8の本数が増えるが、伝送速度が速くなるメリットがある。情報を読み書きしない時には、電源は接続されない。記憶回路12には不揮発性のメモリを用いているので、問題はない。

【0020】図4は、本発明に係る情報書込み読出し装置のID装置6を液体試薬容器に適用した実施例である。液体試薬14は試薬容器15に入っており、試薬容器15の蓋16は、液体試薬14がこぼれるのを防止している。ID装置17は、図1で説明した実施例のものと実質的に同一である。本実施例では試薬容器15の底部下面に取付けられているが、試薬容器15の上部又は側面でもかまわない。試薬容器用のID装置17の記憶素子に対する情報の読み書きは、図3で説明したサンプル容器用のID装置6と同様に行われる。

【0021】図5は本発明によるID装置の他の実施例の平面図、図6は同ID装置の側面図である。各図において、図2で説明した要素と同一のものには、同一の符号を付している。本図で示した実施例では、パッケージに封入していない裸の記憶半導体チップ18を用い、これをそのまま基板5上に取り付け、ボンディングワイヤ19によって基板5の送信端子7、受信端子8、電源端子9、接地端子10と接続する。記憶半導体チップ18は、前述の記憶素子に相当するものである。図6に示すように、チップ保護用樹脂20を用いて記憶半導体チップ18とボンディングワイヤ19を保護している。図5では、説明の便宜上チップ保護用樹脂20を図示していない。この実施例では、パッケージに封入していない裸の記憶半導体チップ18を用いることにより、より安価で小さなID装置を作ることができる。

【0022】図7は、本発明によるID装置において通

信を光学的に行う構成を有する実施例を示す平面図、図8はこの実施例のID装置の内部構成のブロック図である。前記実施例で説明した要素と同一の要素には同一の符号を付す。本実施例では、前述の送信端子7、受信端子8の代わりに、受光素子21、発光素子22が設けられる。また記憶素子4の内部には、図8に示されているように受光回路23、発光素子駆動回路24が設けられる。

【0023】次に、上記実施例の動作について説明する。電力は、電源端子9により供給される。まず情報の書き込み時には、外部の通信用発光素子より受光素子21に向け、情報の書き込み命令と情報内容からなる光信号を発すると、受光素子21と受光回路23により当該光信号を電気信号に変換して通信制御回路11に伝達する。通信制御回路11は、この命令を解読して記憶すべき情報を、記憶回路11の指示された場所に格納する。その逆に、情報を読み出す時には、電源を書き込み時と同じ方法によって接続して動作状態とした後、外部より受光素子21に読み出し命令の光信号を入力する。その命令を通信制御回路11が解読して、記憶回路12の中から指示された内容を読み出し、通信制御回路11は、発光素子駆動回路24、発光素子22によって光信号として外部の受光部に情報内容を送り出す。

【0024】本実施例では、伝送に光を用いるので、接触部が少なくなり、信頼性が増す。また、情報伝達の伝達方式をパラレル伝送方式としてもよい。パラレル方式では、受光素子21と発光素子22の個数が多くなるが、伝送速度が速くなるメリットがある。また記憶回路12には不揮発性のメモリが用いられる。

【0025】図9は、本発明によるID装置において通信を磁気的に行う構成を有する実施例を示す平面図、図10はこの実施例のID装置の内部構成のブロック図である。本実施例では、送信端子7、受信端子8の代わりに受信コイル25、送信コイル26が設けられている。また記憶素子4には、図10に示されるように、受信回路27、送信回路28が設けられる。

【0026】次に、本実施例の動作について説明する。電力は電源端子9より供給される。まず情報の書き込み時には、外部の通信用コイルより受信コイル24に向けて情報の書き込み命令と情報内容からなる磁気信号を発する。すると、受信コイル25と受信回路27により、その磁気信号を電気信号に変換して通信制御回路11に伝達する。通信制御回路11は、この命令を解読して記憶すべき情報を、記憶回路12の指示された場所に格納する。その逆に、情報を読み出す時には、電源を書き込み時と同じ方法によって接続して動作状態とした後、外部より受信コイル25に読み出し命令の磁気信号を入力する。その命令を通信制御回路11が解読して、記憶回路12の中から指示された内容を読み出し、通信制御回路11は、送信回路28、送信コイル26によって磁気

信号として外部に情報内容を送り出す。

【0027】本実施例では、情報の伝送に磁気を用いるので接触部が少なくなり信頼性が増す。本実施例でも、上記実施例と同様にパラレル方式とすることができる。

【0028】図11は本発明によるID装置への電源の供給を光学的に行った実施例であり、図12は本実施例によるID装置の内部構成を示すブロック図である。電源は、外部に設けられた発光器によって与えられ、光電素子29によって電気エネルギーに変換される。通信制御回路11、記憶回路12、発振回路13に用いることができるように光電素子用電源回路30で電圧変換及び安定化し、通信制御回路11、記憶回路12、発振回路13に供給する。本実施例によれば、電源のエネルギー伝達に接触部を用いないので、信頼性が向上する。また先に説明したID装置との通信を光学的に行う実施例や、ID装置との通信を磁気的に行う実施例と同時に用いると、外部との信号及び電源のやり取りを完全に非接触で行うことができ、読み書きのための装置機構部を簡素にすることができる。

【0029】図13は本発明によるID装置への電源の供給を磁気的に行った実施例であり、図14は本実施例のID装置の内部構成を示すブロック図である。電源は、外部に設けられた送電コイルによって与えられ、受電コイル31によって電気エネルギーに変換される。電源は、受電コイル用電源回路32で通信制御回路11、記憶回路12、発振回路13に用いることができるように電圧変換及び安定化され、通信制御回路11、記憶回路12、発振回路13に供給される。本実施例によれば、電源のエネルギー伝達に接触部を用いないので信頼性が向上する。また前記の他の実施例の非接触通信の構成と組合せて同時に用いると、外部との信号、電源のやり取りを完全に非接触で行うことができ、読み書きのための装置機構部を簡素とすることができる。

【0030】図15は本発明によるID装置への電源の供給を、内蔵した電池により行う実施例であり、図16は本実施例のID装置の内部構成を示すブロック図である。本実施例の電源は、電池33により供給され、通信制御回路11、記憶回路12、発振回路13に用いることができるように、電池用電源回路34で電圧変換及び安定化して通信制御回路11、記憶回路12、発振回路13に供給する。電池用電源回路34は、通信制御回路11、記憶回路12、発振回路13に必要な電圧安定度があれば、特になくてもよい。本実施例によれば、外部電源を用いないので、外部との接続が簡単になる。また電池により、記憶素子12に常時電源を供給できるので、不揮発性の記憶素子のみならず、通常用いられている揮発性記憶素子でも用いることができる。

【0031】図17は本発明によるID装置への電源の供給を、電氣的接続による手段と電池によって行う実施例であり、図18は本実施例によるID装置の内部構成

を示すブロック図である。本実施例では、電池用電源回路35は、電池33と、電源端子9を介して接続される外部電源との切り替えを行い、外部電源が供給されている時には、外部電源より電源供給を優先する。また電池33として充電式電池を用いることもでき、この充電式電池に対しては、外部電源より充電することも可能である。この方法により、電池の消耗を少なくすることができ、長期間の使用を可能にする。

【0032】図19は本発明によるID装置への電源の供給を、光学的手段と電池とによって行う実施例であり、図20は本実施例のID装置の内部構成を示すブロック図である。本実施例では、光電素子用電源回路30が、電池33と光電素子29との切り替えを行い、光電素子29に対し光エネルギーにより電源が供給されている時には、光電素子29からの電源の供給を優先する。また電池33として充電式電池を用いることもでき、この充電式電池には、光電素子29からのエネルギーにより充電することもできる。この方法により、電池33の消耗を少なくすることができ、長期間使用できる。

【0033】図21は、本発明によるID装置への電源の供給を、磁気的手段と電池とによって行う実施例であり、図22は本実施例のID装置の内部構成を示すブロック図である。本実施例では、受電コイル用電源回路32は電池33と受電コイル31の切り替えを行い、受電コイル31が供給されている時には受電コイル31からの電源の供給を優先する。また電池33として充電式電池を用いることができ、この充電式電池は受電コイル31より充電することができる。この方法により、電池の消耗を少なくすることができ、長期間使用できる。

【0034】図1～図22に示した各実施例における通信手段及び電源の供給手段は、任意に組み合わせて使用することができる。

【0035】図23は、前述の試薬及びサンプルのID装置を利用した本発明に係る情報書き込み読み出し装置を適用した自動分析装置の実施例である。本実施例による自動分析装置では、制御用CPU41と、これにCPUバス42で接続されたLOGアンプ及びADコンバータ43、メモリ44、フロッピーディスクドライブ45、プリンタ46、キーボード47、分析されるサンプルを入れた複数のサンプル容器48、これを載置するサンプルディスク49、各サンプル容器48のID装置を読み取るサンプルID読取り装置50、サンプル容器48中のサンプルを反応ディスク51の反応容器52に分注するサンプル分注装置53、サンプルと反応させる試薬を収容する複数の試薬容器54、試薬容器54を保持する試薬ディスク55、試薬容器54のID装置の内容を読み書きする試薬容器ID読書き装置56、試薬容器54中の試薬を反応容器52に分注する試薬分注機構57、サンプル分注装置53へサンプルを吸引し、反応容器52へ吐出するためのサンプルシリンジ58、試薬を吸引

し、反応容器52へ吐出するための試薬シリンジ59、反応容器52に入れられたサンプルと試薬を攪拌する攪拌機構60、反応した試薬とサンプルの吸光度変化を測定する光度計61とその光源62、測定結果の表示をするCRTディスプレイ63、反応容器53を一定温度に保つ恒温槽64、分析の終わった反応容器を洗う洗浄装置65、洗浄装置65に水を供給し、廃液を吸引するための洗浄水供給用の給水装置66から構成される。

【0036】上記において、サンプル容器48は、図1で説明したサンプル容器2と同一のものであり、その底部下面にID装置6を備えている。また試薬容器54は、図4で説明した試薬容器15と実質的に同一のものであり、その底部仮面にID装置17を備えている。

【0037】次に上記の自動分析装置の動作について説明する。通常の分析においては、サンプルをサンプル容器48の中に入れ、そして、サンプル容器48に付けられたサンプルID装置に、そのサンプルに対応したサンプル属性や分析項目等の情報を入れた後に、又は予めサンプルに対応したサンプル属性や分析項目等の情報を書き入れたサンプルID装置をサンプル容器に取り付けた後に、サンプルの入ったサンプル容器48はサンプルディスク49にセットされる。サンプル容器48のIDは、サンプルID読取り装置50によって自動的に読み取られ、このIDの情報内容に従い、分析を行う。

【0038】このサンプル容器48内のサンプルは、サンプル分注装置53、サンプルシリンジ58によって反応容器52に移送される。この反応容器52には、更に必要な試薬が、試薬ディスク55上の試薬容器54から試薬分注装置57と試薬シリンジ59によって分注される。攪拌装置60により攪拌が行われ、反応容器52内のサンプルと試薬が反応する。反応したサンプルは、光度計61によって吸光度を測定され、LOGアンプ及びADコンバータ43を介してデジタル化され、メモリ44上に取り込まれる。

【0039】上記の分析に係わる試薬の固有なパラメータは、試薬容器54に取り付けられた試薬ID装置に記憶されており、試薬ID読書き装置56によって読み取られ分析に利用される。また試薬ID装置には、試薬をセットした日時が試薬ID読書き装置56によって書き込まれ、試薬管理を自動的にを行い、使用期限を過ぎた場合は、アラームをCRTディスプレイ63に表示する。これらの動作は、すべて制御用CPU41によって制御され、分析した結果は、演算処理され、フロッピーディスクドライブ45によりフロッピーディスクに記録されると同時に、CRTディスプレイ63に表示され、プリンタ46に印字される。

【0040】次に、前記のサンプルID読取り装置50の詳細な構成を、図24を参照して説明する。

【0041】サンプル容器48に取り付けられたサンプル用ID装置6は、サンプルID端子用プローブ移動ギ

ア 70 に取り付けられたサンプル用 I D 送信端子用プローブ 71 とサンプル用 I D 受信端子用プローブ 72 とサンプル用 I D 電源端子用プローブ 73 とサンプル用 I D 接地端子用プローブ 74 により、サンプル I D モータ駆動・データ送受信回路 75 に電氣的に接続され、電源の供給やデータの交換ができるようになっている。サンプル I D 端子用プローブ移動ギア 70 は、サンプル I D 端子用プローブモータギア 76 を介し、サンプル I D 端子用プローブ駆動モータ 77 とサンプル I D モータ駆動・データ送受信回路 75 とによって上下する。そして、これにより、サンプル I D 端子用プローブ移動ギア 70 に取り付けられたサンプル用 I D 送信端子用プローブ 71、サンプル用 I D 受信端子用プローブ 72、サンプル用 I D 電源端子用プローブ 73、サンプル用 I D 接地端子用プローブ 74 をサンプル I D 手段に接続したり、切り放したりできるようになっている。サンプル I D モータ駆動・データ送受信回路 75 は、制御用 CPU 41 に接続されており、I D 情報のやり取りを行う。

【0042】I D 読取り装置 50 の動作では、まず、読み取るべきサンプル容器 48 はサンプルディスク 49 の移動によりサンプル I D 読取り装置 50 上へ移動される。次に、サンプル I D 端子用プローブ移動ギア 70 に取り付けられたサンプル用 I D 送信端子用プローブ 71、サンプル用 I D 受信端子用プローブ 72、サンプル用 I D 電源端子用プローブ 73、サンプル用 I D 接地端子用プローブ 74 を、サンプル I D 端子用プローブ駆動モータ 77 により上昇させ、サンプル I D モータ駆動・データ送受信回路 75 と電氣的に接続させる。この後、サンプル I D モータ駆動・データ送受信回路 75 と I D 装置 6 との間で情報のやり取りが行われ、その情報は、制御用 CPU 41 に伝達され、分析される。

【0043】上記実施例では、電氣的に接続される例を示したが、先の各実施例で説明したように、通信及び電源の手段のいずれにも磁氣的方法又は光学的方法を用いることができる。また電源として電池を用いることもできる。

【0044】図 25 は、試薬容器 54 の I D 読書き装置 56 の構成を詳細に示す。図 24 で示したサンプル I D 読取り装置 50 と同様に、試薬 I D モータ駆動・データ送受信回路 81 によって情報の読み書きが行なわれる。図 25 において、図 24 で説明された要素と実質的に同一の要素には同一の符号を付している。この実施例でも、前記実施例と同様に、通信、電源のいずれにも磁氣的方法又は光学的方法を用いることができる。また電源として電池を用いることもできる。

【0045】この実施例では、自動分析装置の例を示したが、単体の自動分析装置のみならず、各種の機器を組み合わせて構成される分析システムにも容易に拡張できる。

【0046】図 26 は、本発明による I D 手段の情報を

読み書きする情報入出力装置の一実施例を示す。サンプル I D 装置 6 を付けたサンプル容器 48 は、サンプル容器ホルダ 91 にセットされる。サンプル容器ホルダ 91 には、サンプル用 I D 送信端子用プローブ 71、サンプル用 I D 受信端子用プローブ 72、サンプル用 I D 電源端子用プローブ 73、サンプル用 I D 接地端子用プローブ 74 が取り付けられており、これらのプローブは、サンプル I D 読書き回路 92 に接続されている。コンピュータ 93 には、サンプル I D 読書き回路 92、CRT ディスプレイ 94、キーボード 95、カードリーダー 96、プリンタ 97 が接続されている。

【0047】次に、上記情報入出力装置の動作を説明する。まず情報は、コンピュータ 93 に、キーボード 95、カードリーダー 96 などから入力される。次に入力された情報は、サンプル I D 読書き回路 92 を通して、サンプル容器ホルダ 91 にセットされたサンプル容器 48 のサンプル I D 装置 6 に書き込まれる。この実施例の入力方法以外にも、情報を入力する方法として外部コンピュータより得る方法、フロッピーディスク等に記憶されているデータを用いる方法等が考えられる。本実施例によれば、自動的に書き込むことができるので、作業者の能力によらず正確に作業ができる。

【0048】図 27 は、本発明に係る情報書き込み読出し装置を自動試薬注入検査装置へ適用した実施例である。自動試薬注入検査装置にセットされた空の試薬容器 54 は、試薬容器搬送ライン 101 を自動的に移動する。移動の途中で、試薬注入装置 102 によって試薬を注入され、試薬分析装置 103 によって注入した試薬をチェックし、その分析した結果、ロット番号、注入した日時、分析パラメータ等を試薬 I D 書き込み装置 104 によって、試薬容器 54 に取り付けられた試薬 I D 装置 17 に書き込む。試薬の注入及び情報の書き込みが済んだものは、試薬注入済み試薬容器 105 として受け場所に出てくる。

【0049】上記のような自動試薬注入装置を用いることによって、自動的に試薬のロット番号、注入した日時、分析パラメータ等を試薬 I D 装置 17 に書き込むことができ、それらの情報をバーコード等で添付する必要がなくなる。更に、情報と試薬が 1 対 1 に対応し、間違いがなくなる。

【0050】本実施例では、最初から、試薬 I D 装置を空の試薬容器 54 に取り付け後から書き込みを行ったが、試薬 I D 装置を情報を記入した後、取り付けてもいい。更に、本実施例では、試薬容器の例を示したがサンプル容器の I D 装置にも同様に用いることができる。

【0051】

【発明の効果】以上の説明で明らかなように本発明によれば、次のような効果が生じる。本発明によれば、半導体装置を利用して非常に小さく、且つ大容量の分析装置に用いる試薬及びサンプルの I D 装置を実現することが

でき、且つ通信制御手段、通信接続手段を内蔵することにより、このID装置と外部装置との間で大容量のデータの書き込み読出しを容易且つ正確に行うことができる。またID装置により容器のサイズを制限されることがなく、非常に小さな試薬用又はサンプル用の容器を用いることができる。

【0052】本発明によるID装置とのデータのやり取りのための通信、及びID装置への駆動用の電源供給を、電気的、磁氣的、光学的な手段を用いることにより試薬容器やサンプル容器に接触することなく、行うことができ、試薬容器やサンプル容器の移送が容易になるという効果がある。

【0053】本発明のID装置を用いた自動分析装置では、多数のサンプル及び試薬容器のそれぞれについて、非常に多くの情報を、付設されたID装置に持たせることができ、そのために例えばサンプルの名称、採取時間等の属性情報や測定項目などもID装置に入れて分析装置で読み取り分析できる、従って、分析装置側でのサンプルの管理が簡単になる。また、本発明による試薬のためのID装置を用いると、試薬固有の分析に必要なパラメータや試薬のロット毎の変動などを、試薬容器に予め覚えさせて供給することができ、分析装置において、特別な入力操作が必要なく試薬の変更ができる効果がある。

【0054】本発明による分析装置の試薬及びサンプルのID装置に対し、ID装置を書き込むための情報入出力装置を用いれば、例えばサンプルの採取時点で、直ぐにサンプルに必要な情報を記入することができる効果がある。

【0055】本発明による試薬の自動注入検査装置によれば、試薬を自動的に検査してロット毎のばらつきや各種パラメータを、即座に試薬のID装置に書き込むことができ、同様に、本発明によるサンプルの自動注入装置によれば、サンプル容器にサンプルを分注すると同時に各種情報を自動的に入力し、取り扱いの間違いがなくする効果がある。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明によるID装置を適用した液体試薬容器の構成を示す縦断面図である。

【図2】本発明によるID装置の外部構成を示す平面図である。

【図3】本発明によるID装置の内部構成を示すブロック図である。

【図4】本発明によるID装置を適用した液体試薬容器の構成を示す一部断面側面図である。

【図5】本発明のID装置の他の実施例の平面図である。

【図6】本発明のID装置の他の実施例の側面図である。

【図7】本発明のID装置との通信を光学的に行う実施

例の平面図である。

【図8】上記実施例のID装置の内部構成を示すブロック図である。

【図9】本発明のID装置との通信を磁氣的に行う実施例の平面図である。

【図10】上記実施例のID装置の内部構成を示すブロック図である。

【図11】本発明のID装置への電源の供給を光学的に行う実施例の平面図である。

10 【図12】上記実施例のID装置の内部構成を示すブロック図である。

【図13】本発明のID装置への電源の供給を磁氣的に行う実施例の平面図である。

【図14】上記実施例のID装置の内部構成を示すブロック図である。

【図15】本発明のID装置への電源の供給を、内蔵した電池により行う実施例を示す平面図である。

【図16】上記実施例のID装置の内部構成を示すブロック図である。

20 【図17】本発明のID装置への電源の供給を電気的接続による手段と電池とによって行う実施例の平面図である。

【図18】上記実施例のID装置の内部構成を示すブロック図である。

【図19】本発明のID装置への電源の供給を光学的手段と電池とによって行う実施例の平面図である。

【図20】上記実施例のID装置の内部構成を示すブロック図である。

30 【図21】本発明のID手段への電源の供給を磁氣的手段と電池とによって行う実施例の平面図である。

【図22】上記実施例のID装置の内部構成を示すブロック図である。

【図23】本発明によるID装置を用いた自動分析装置の実施例を示す外観構成図である。

【図24】本発明のID装置を用いた自動分析装置のサンプルのID読取り部の詳細な構成図である。

【図25】本発明のID装置を用いた自動分析装置の試薬のID読取り部の詳細な構成図である。

40 【図26】本発明のID装置への情報の読み書きに用いる情報入出力装置の実施例を示す構成図である。

【図27】本発明の自動試薬注入検査装置の実施例を示す斜視図である。

【符号の説明】

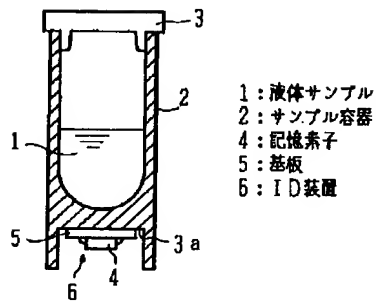
- | | |
|------|--------|
| 1 | 液体サンプル |
| 2 | サンプル容器 |
| 4 | 記憶素子 |
| 5 | 基板 |
| 6 | ID装置 |
| 7 | 送信端子 |
| 50 8 | 受信端子 |

- 15
9 電源端子
10 接地端子
11 通信制御回路
12 記憶回路
13 発振回路
15 サンプル容器
17 ID装置
18 記憶半導体チップ

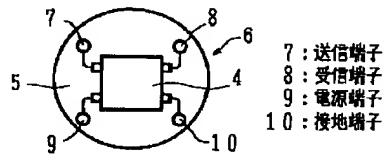
- 16
* 21 受光素子
22 発光素子
25 受信コイル
26 送信コイル
29 光電素子
31 受電コイル
33 電池

*

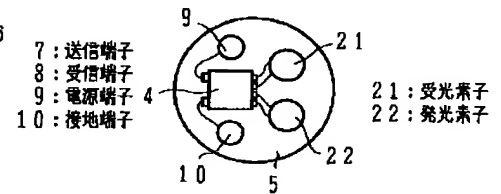
【図1】



【図2】

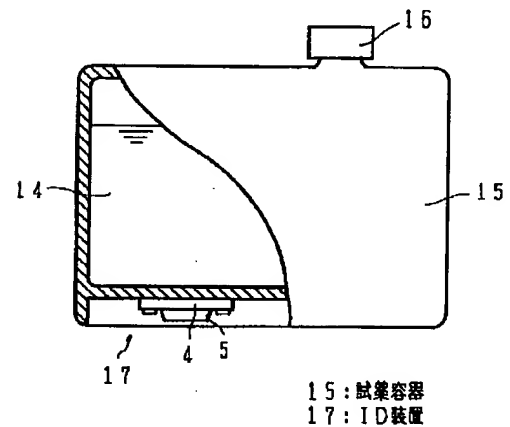
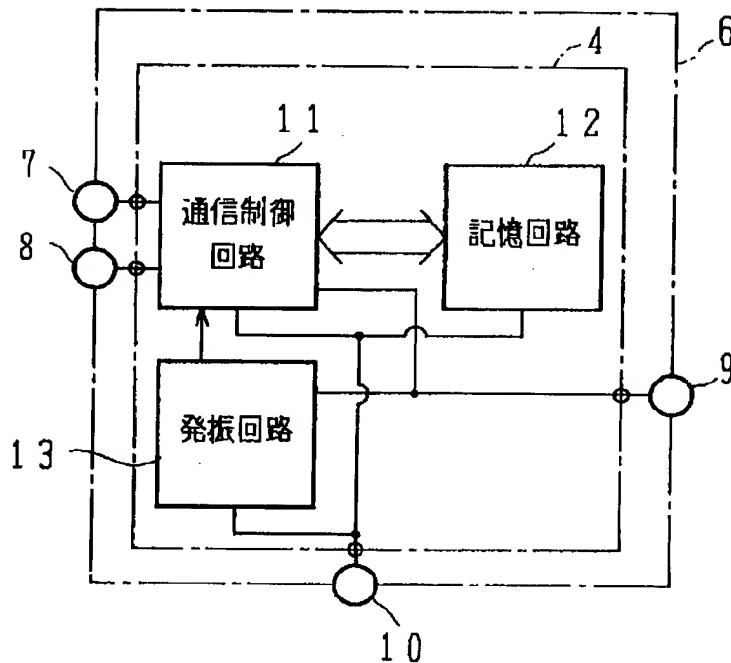


【図7】

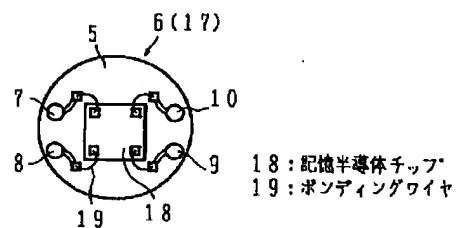


【図4】

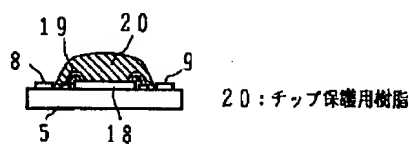
【図3】



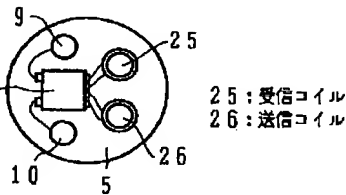
【図5】



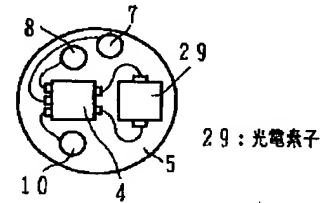
【図6】



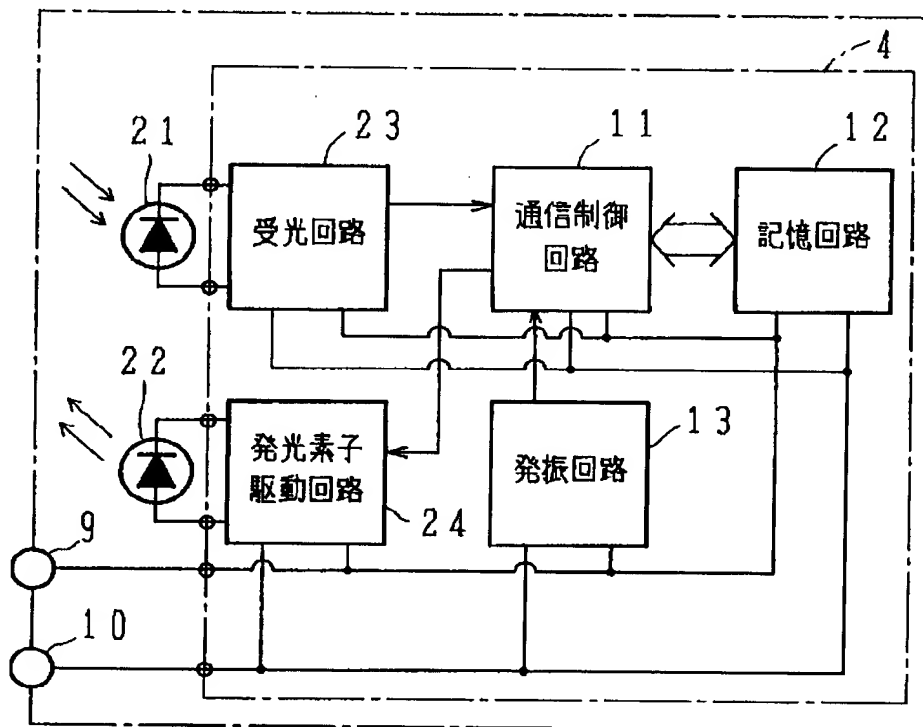
【図9】



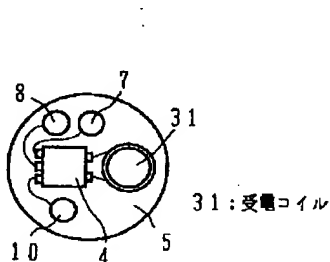
【図11】



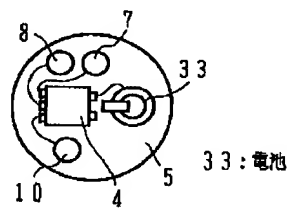
【図8】



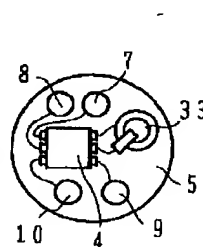
【図13】



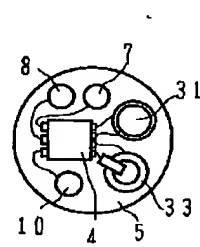
【図15】



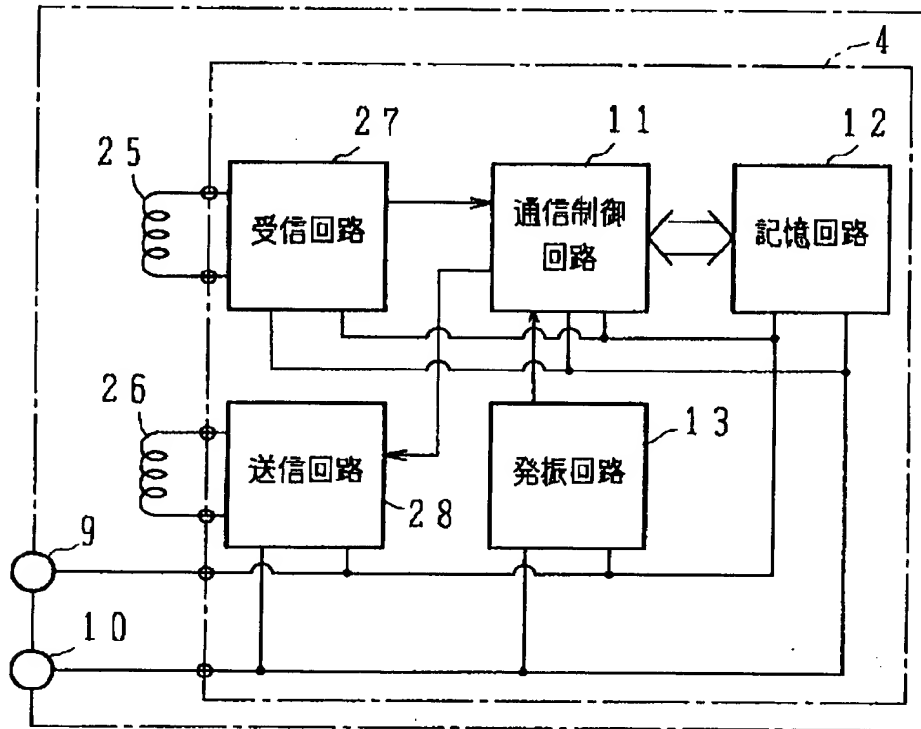
【図17】



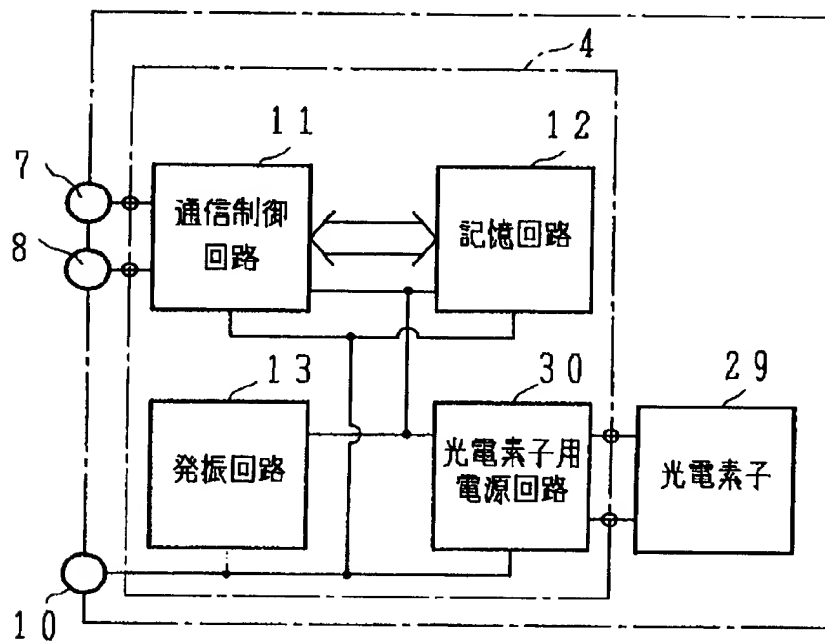
【図21】



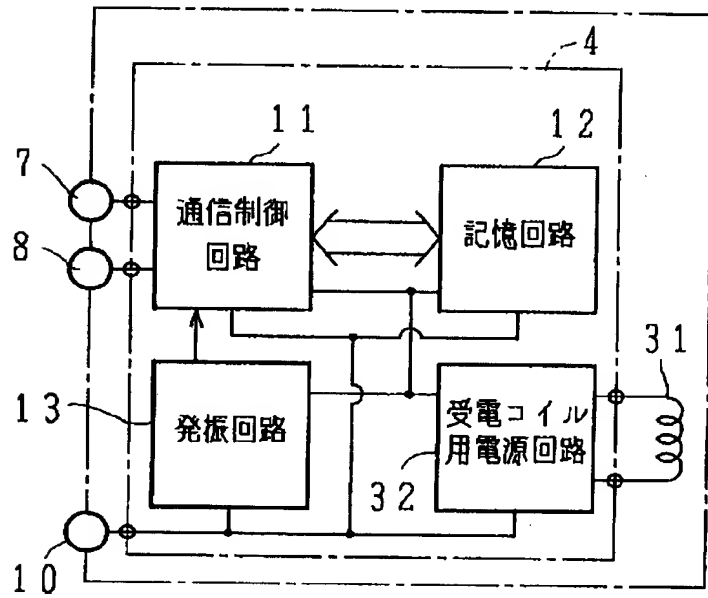
【図10】



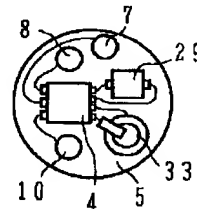
【図12】



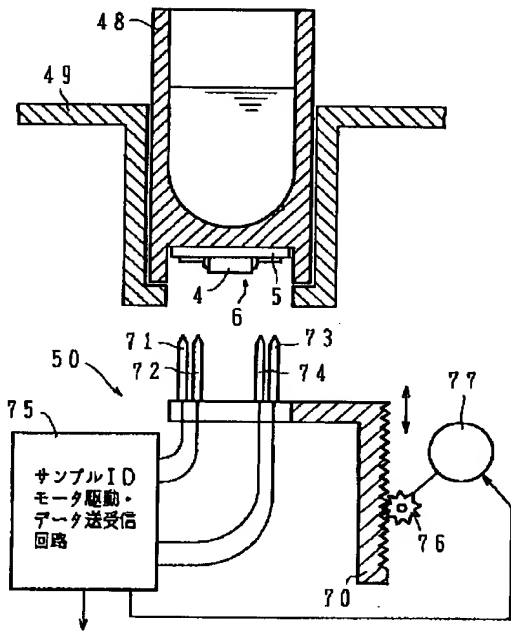
【図14】



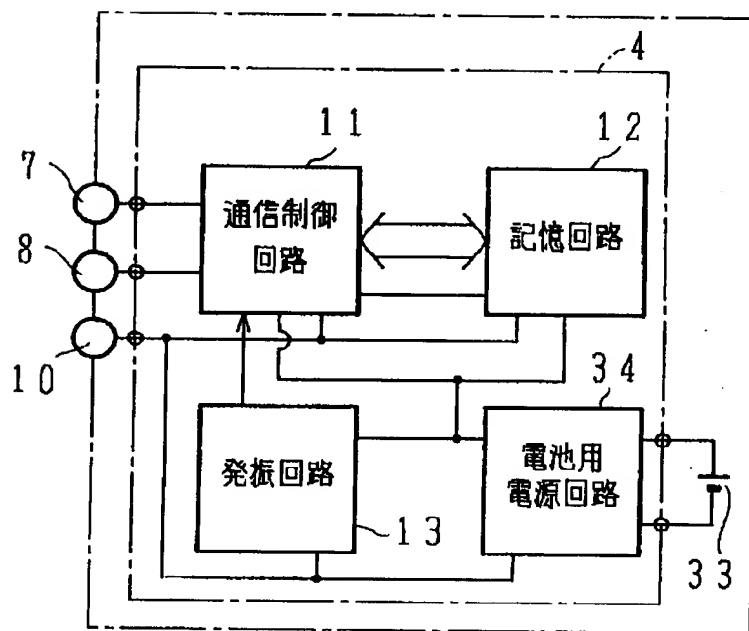
【図19】



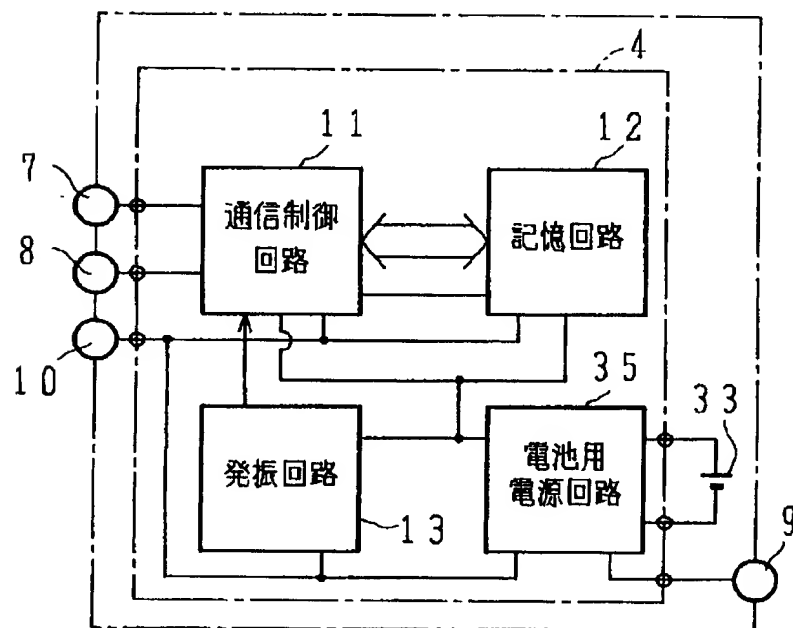
【図24】



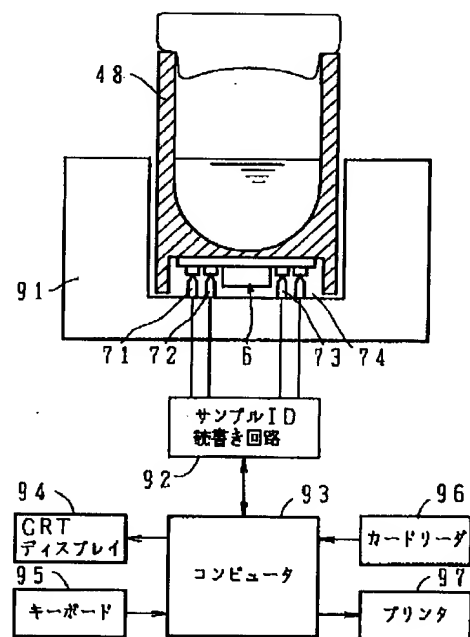
【図16】



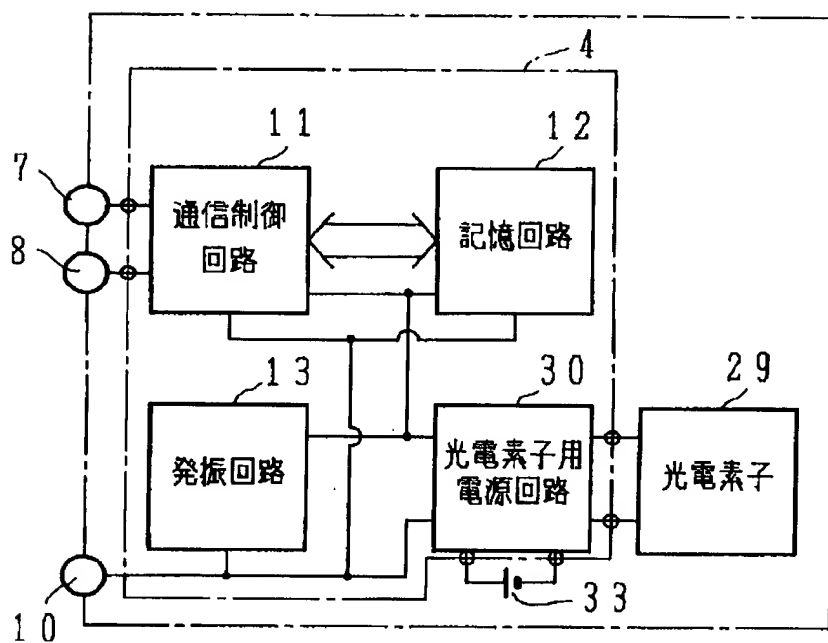
【図18】



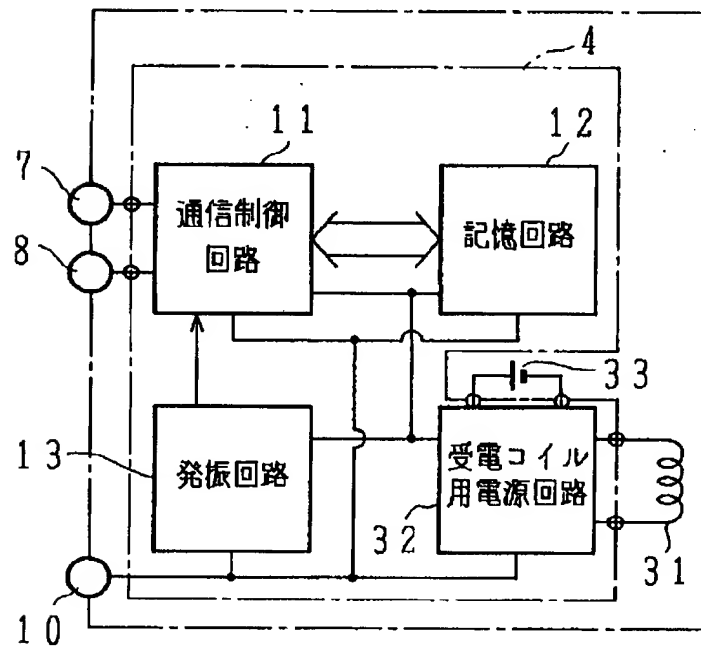
【図26】



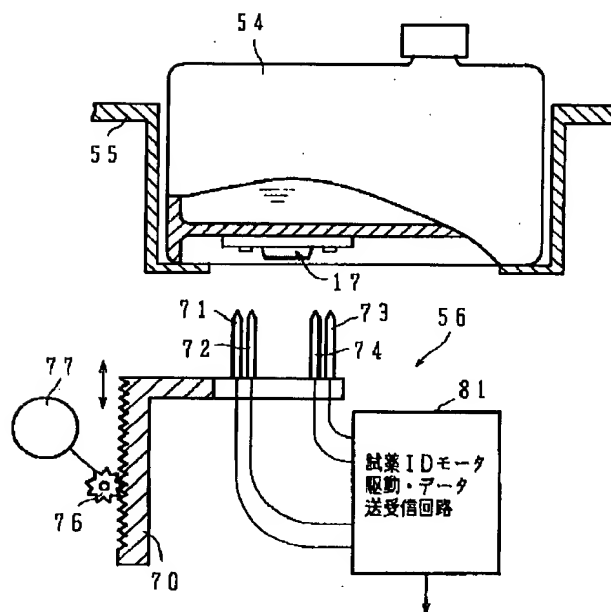
【図20】



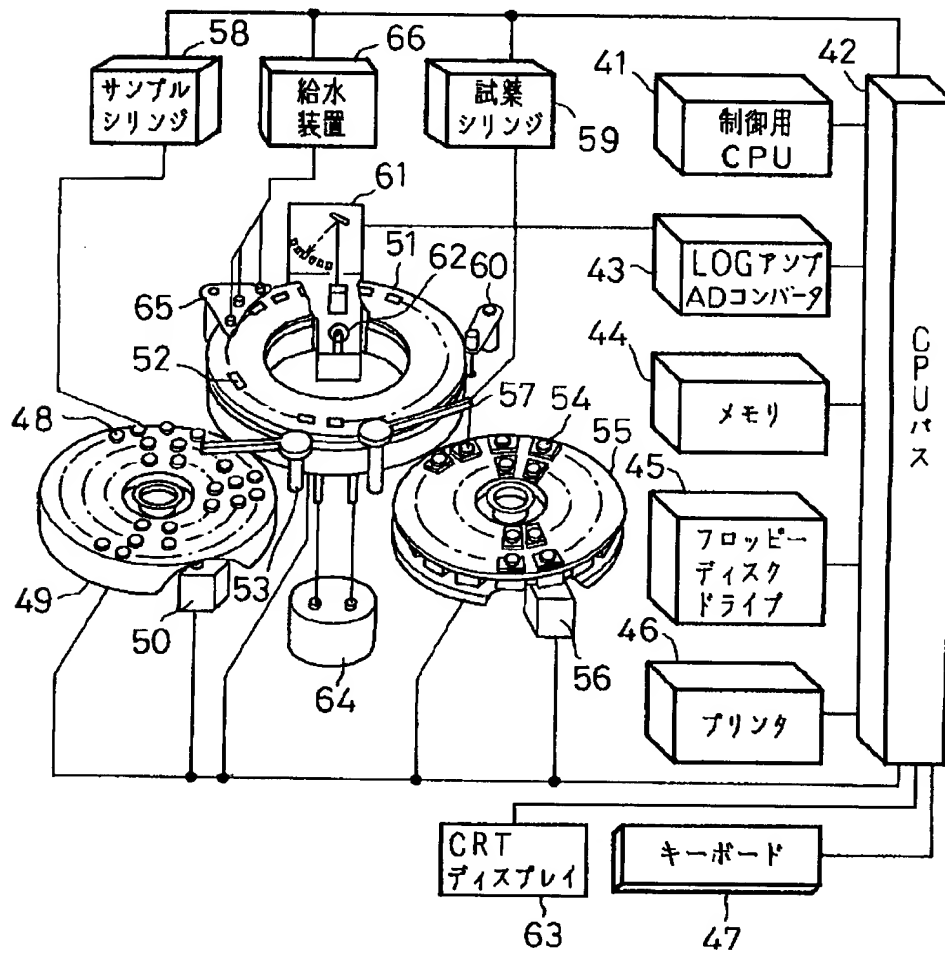
【図22】



【図25】



【図23】



【図27】

